

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS
Sección de Biológicas. inéditas



TESIS DOCTORAL

**Investigación sobre la frecuencia de deficiencia en G6PD y
talasemia en varias provincias españolas**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Ángela Casado Moragón

Madrid, 2015



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5310045412

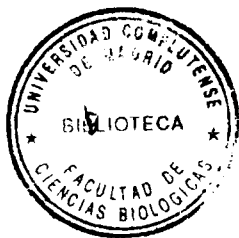
T 616.3

CAS
inv

**INVESTIGACION SOBRE LA FRECUENCIA DE DEFICIENCIA EN G6PD
Y TALASEMIA EN VARIAS PROVINCIAS ESPAÑOLAS.**

por

Angela Casado Moragón



Memoria presentada a la Facultad
de Ciencias (Sección de Biológicas)
de la Universidad de Madrid,
para aspirar al grado de Doctor.

Madrid, Noviembre de 1971

Angela Casado

R. 28.211

Director de la presente Memoria:

DR. D. ANGEL PELLICER ITURRIOZ

**Investigador Científico, Jefe de la Sección de
Genética Humana del Instituto de Genética y An-
tropología del C.S.I.C.**

Ponente de la misma:

PROF. DR. D. JOSE PONS ROSELL

**Catedrático de Antropología de la Facultad de
Ciencias, Director del Instituto de Genética y
Antropología del C.S.I.C.**

**El presente trabajo ha sido realizado en el
Laboratorio de Genética Humana del Institu-
to de Genética y Antropología del C.S.I.C.
gracias a la Beca para Formación de Perso-
nal Investigador (II Plan de Desarrollo)
concedida a la autora por la Dirección Ge-
neral de Enseñanza Superior e Investigación.**

Agradesco al DR. D. ANGEL PELLICER ITURRIOZ,
Director de esta Memoria, la ayuda y direc-
ción prestada en la realización de la misma.

Igualmente, agradezco al Profesor DR. D. JOSE
PONS ROSELL, Ponente de esta Memoria, su va-
liosa colaboración en la elaboración de la
misma.

También quiero hacer constar mi agradecimiento
a las Srtas. MERCEDES DE LAS HERAS, MARIA ENCAR-
NACION LOPEZ y AMELIA VADILLO, que han colabora-
do activamente en la realización material de es-
ta Memoria.

INDICE

	Pgs.
I. CAPITULO. INTRODUCCION	
1º Antecedentes históricos sobre el déficit del enzima G6PD	1
2º Antecedentes históricos sobre la Talasemia..	9
3º Justificación de este trabajo	17
II. CAPITULO. CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS	
1º Metabolismo de los eritrocitos humanos: papel que en él desempeña la G6PD	20
2º Estructura de la hemoglobina: variaciones de las cadenas polipeptídicas constituyen- tes en las Talasemias y otras hemoglobino- patías	35
3º Hemoglobinas anormales	41
III. CAPITULO. SINTOMAS CLINICOS	
1º Deficiencia de G6PD en los hematies	42
2º Aspectos clínicos de la Talasemia	52
3º Otras hemoglobinopatías	65

IV. CAPITULO. GENETICA: VARIEDADES. SELECTIVIDAD

1º Déficit de G6PD: Genética y variedades	67
2º Talasemia: Genética y variedades	82
3º Hemoglobinas anormales: Genética	100
SELECTIVIDAD: POLINORFISMO COMPENSADOR	
1º Déficit de G6PD	103
2º Talasemia	107
3º Hemoglobinas anormales	110

V. CAPITULO. MATERIALES Y METODOS

1º Determinación del déficit de G6PD	111
2º Diagnostico de la Talasemia	122
3º Reconocimiento de Hemoglobinas anormales	129

VI. CAPITULO. MUESTRA Y RESULTADOS

Muestra	130
1º Déficit de G6PD: resultados	132
2º Talasemia: resultados	138
3º Hemoglobinas anormales: resultados	154

VII. CAPITULO. DISTRIBUCION GEOGRAFICA Y DISCUSION

1º Repartición geográfica de la deficiencia en G6PD	136
2º Repartición geográfica de la Talasemia	169
3º Repartición geográfica de las hemoglobi- nas C y Lepore	184

	Pgs.
DISCUSION	
1º Deficiencia en G6PD	190
2º Talasemia	194
3º Hemoglobinopatias C y Lepore	198
 VIII. CAPITULO. RESUMEN Y CONCLUSIONES	
RESUMEN	
1º Déficit de G6PD	202
2º Talasemia	204
3º Hemoglobinas C y Lepore	207
CONCLUSIONES	
1º Deficiencia en G6PD	208
2º Talasemia	211
3º Hemoglobinas C y Lepore	213
 IX. CAPITULO. BIBLIOGRAFIA	 214
 FOTOGRAFIAS	 238

1. INTRODUCCION

1a.- ANTECEDENTES HISTORICOS SOBRE EL DEFICIT DEL ENZIMA GLUCOSA-6-FOSFATO-DEHIDROGENASA.

Es conocida desde hace ya muchos años una enfermedad que afectaba a determinados individuos, y cuyos síntomas y manifestaciones externas eran muy particulares. Ya a principios de este siglo, dicha enfermedad se empezó a localizar en determinados núcleos de la población mediterránea y, posteriormente, la extensión de tales núcleos se amplió a otros centros de población debido a que habían emigrado hacia ellos individuos con esos síntomas.

Un síntoma característico se produce cuando el individuo come habas, y pasado un determinado tiempo, que puede ser de 5 a 24 horas de latencia, comienza a percibir molestias, vómitos, dolores abdominales, y como dato más significativo, la eliminación de orinas oscuras, cuyo color es debido a la hemoglobina producida por la hemolisis intravascular que se produce en estos sujetos; un -

síntoma más leve, pero cuya presentación es más rápida, ocurre en algunos individuos solamente al acercarse a un habar en flor; en estos casos, los síntomas de enfermedad eran atribuidos a simples inhalaciones de polen. En el aspecto, que podríamos llamar funcional, las modificaciones más constantes, son un ligero aumento de la resistencia - globular, así como una anemia moderada.

Estudiando las características de esta enfermedad, se observa como cosa curiosa, que en su inmensa mayoría los individuos afectados se hallan agrupados en familias generalmente en los lugares en que los cultivos de habas son muy abundantes.

Hacia 1921, Pesci emitió la hipótesis de que esta enfermedad, llamada "favismo", podría ser de tipo alérgico, ya que de entre varios individuos - que comen habas en un mismo momento, solo alguno - de ellos es afectado sin que los restantes individuos sufran el más leve trastorno; para otros individuos no es necesario ni siquiera comer habas, basta con acercarse a un habar en flor para experimentar el mismo síntoma, aunque como era de esperar, de manifestación más leve.

Esta interpretación alérgica del "favismo" fué aceptada por casi todos los autores, y, si -- bien hubo algunos que la admitieron con ciertas -- reservas, no encontraron puntos de apoyo suficientes para desecharla; la opinión por tanto fué unánime.

Posteriormente, cuando se empiezan a publicar las primeras observaciones del "favismo" en España, Surinyach hace notar la falta de antecedentes así como la carencia de todo aspecto alérgico en los enfermos. Casi todos los afectados daban la impresión de haber sufrido una intoxicación, si bien era justo reconocer que se trataba de una intoxicación selectiva.

Por otra parte, se observa que un determinado número de enfermos no manifiestan reacción cutánea alguna ante el jugo de habas tiernas recién obtenido; al mismo tiempo se demuestra el aspecto secundario de los casos de inhalación y se establece en parte su naturaleza. Se vió asimismo, que todos los enfermos que sufrían hemolisis por inhalación, la sufrían también por ingestión, pero no ocurría

el fenómeno inverso. Se comprobó que el síndrome de inhalación no solamente se produce en los haberes en flor, sino además en los almacenes donde se guardaban las habas y en los hogares al -- desgranar las vainas y cocer el grano, o sea, en los lugares donde no hay rastro de participación polínica.

De acuerdo con estos hechos, los casos de inhalación polínica eran debidos con toda seguridad, a una susceptibilidad ante los aceites volátiles u osmilos que se encontraban en la vicia faba.

Si bien en principio se admitieron ambas hipótesis (la primera que consideraba al "Yavismo" como una enfermedad de tipo alérgico y la segunda hipótesis defendida por Surinyach, que se basaba en una manifestación de tipo tóxico) al ir aumentando el número de casos conocidos, fué desechándose por completo el significado alérgico, ya que en ninguno de los casos conocidos se trató de una alergia en sentido de alérgenos atópicos no - dializables; falta por ver si algunos casos se deben a un tipo de alergia para determinados alér- -

genes de propiedades especiales, tal sería el caso de ciertos esmiles.

A medida que iban aumentando los conocimientos sobre estos desórdenes constitucionales, el término "favismo" resultaba pobre y fué necesario dar a tales síntomas, cuya patogenia, por otra parte era ya más conocida, una denominación más amplia; esto justificaba el que se haya denominado por algunos autores "síndrome de hemolisis alimentaria" habiéndose comprobado, además, que la acción hemolizante de determinados alimentos es de tipo tóxico. No sólo se conocen individuos afectados de ataques hemolíticos producidos por habas, han sido hallados otros producidos por ingestión de guisantes (Marcelengo), por judías (Surinyach), por granadas y almortas (Marcelengo) y por higos chumbos (Surinyach).

Independientemente del cuadro clásico de "favismo", crisis hemolítica a propósito de una ingestión por habas (vicia faba), o una simple inhalación polínica, las reacciones hemolíticas han sido conocidas durante mucho tiempo como riesgos que acompañaban la administración de ciertas clases de agentes terapéuticos, incluyendo entre ellas: derivados de amina-quinoleínas, (primaquina, plasmaquina, etc.),

aminosulfonas (DDS), aminosulfamidas (sulfamilamida, salicilazo-sulfapiridina, etc.), nitrofuran - toina, ácido paraaminico salicilico, fenacetina, - derivados de la vitamina K .. etc.

En 1926, Cordes señala la presencia de una anémia hemolítica en 4 de 36 negros que habían ingerido determinadas dosis de drogas antimalariales, tales como la primaquina 8-amino quinoleína.

Numerosos casos han sido observados posteriormente, y se ha podido comprobar que la hemólisis causada por susceptibilidad a la 8-amino quinoleína, es debida a un defecto hereditario.

En 1941, Emerson, Ham y Castle sugieren que algunas drogas hemolíticas y compuestos químicos, -- productos de degradación, funcionan como oxidantes en un sistema reversible de oxidación-reducción en los eritrocitos, y de este modo causan la reducción de la metahemoglobina incrementando la fragilidad - osmótica y la hemólisis.

Hockvald y colaboradores señalaron en 1952 que:

a) la primaquina y la 8-amino quinoleína, drogas - antimalariales, inducían hemólisis en determina-

- dos individuos que son susceptibles;
- b) que la hemolisis asociada a la administración de primaquina ocurre en aproximadamente 10% de los negros; y,
- c) que la severidad de la hemolisis depende, en grado muy considerable, de la dosis aplicada.

En 1954 Beutler, Dern y Carson demostraron - que la hemolisis susceptible a la primaquina, observada en negros con tratamiento antipalúdico, era debida a una anomalía en los eritrocitos.

Este defecto intrínseco de los eritrocitos - está caracterizado por una severa anomalía bioquímica que marca la ausencia o carencia del enzima Glucosa-6-fosfato-dehidrogenasa (G6PD); por este motivo, el defecto ha sido designado como "déficit de G6PD".

Dicho defecto congénito del metabolismo está en dependencia de un gen gonosomal, situado en el - cromosoma X, con dominancia incompleta. Pronto se - fué dando importancia antropológica a este defecto genético, al comprobar que su repartición era muy - variable; en efecto, no tardó en observarse que el citado defecto eritrocitario no era privativo de -

los negros americanos, sino que ofrecía una distribución geográfica muy amplia entre numerosas poblaciones mundiales. Así se pudo descubrir en la rana nórdica, mediterránea, india y alpina, sobre todo en sefarditas, India y Cerdeña. En Africa, se detectó en Nigeria y entre los bantúes, y en Asia entre los chinos, en Tailandia y Formosa. Es poco frecuente en el Norte de Europa.

En conjunto, se pudo observar que la distribución del déficit de G6PD, corresponde, en gran parte, a la del paludismo.

2a.- ANTECEDENTES HISTORICOS SOBRE LA TALA- **SEMIA.-**

Otro desorden de origen hematológico, propio de los países mediterráneos, aunque no exclusivo de ellos, y que comparte con el déficit de G6PD la hipótesis de ofrecer ventaja selectiva a sus portadores contra el paludismo, es la Talasemia.

Es curioso observar cómo un síndrome tan -- típico como el de la Talasemia, tuvo una elaboración tan lenta. La explicación estaría en la falta de antecedentes concretos sobre tal enfermedad.

Los primeros datos que se poseen, están constituidos por los trabajos de Jashok (1899) y Hayen (1908), que describían anemias hemolíticas de la infancia, caracterizadas por la presencia en sangre - periférica de numerosas formas celulares inmaduras de la serie roja; tales manifestaciones merecieron la denominación de "anemias leucoeritroblásticas". Aunque esta designación parezca hoy día muy heterogénea, abarca, sin lugar a duda, numerosos casos de

Talasemia. Al observarse la poca precisión de este término (son muchas las anemias que transcurren con eritroblastosis) y atendiendo a que su aparición se da preferentemente en niños pertenecientes a razas mediterráneas, se impone la denominación de "anemia mediterránea".

Una forma leve de esta enfermedad, propia de los adultos, fue descubierta por primera vez en 1925 por Riatti en Ferrara (Italia). Pocos meses después Cooley y Lee, en los Estados Unidos, efectuaron en inmigrantes procedentes de los países mediterráneos, la descripción de la forma infantil - mortal. Greppi, en 1928, insistió sobre el carácter microcítico de las anemias mediterráneas, y Micheli en 1929, respecto a la existencia de una forma de - ovalocitosis concomitante análoga al "target-oval - cells" síndrome de Damaskos (1943).

Fué este mismo investigador, Damaskos, el - que basándose en la morfología de los hematíes, propone la denominación de "target-cell anemia" (anemia de células en diana). Sin embargo, la mayoría de los autores, en honor a Cooley, que fué quién la desgle-

só, en 1925 como entidad clínica aparte del grupo de las anemias pseudoleucémicas, la denominaron simplemente "anemia de Cooley".

Si bien el número de casos conocidos aumentaba y sus manifestaciones clínicas eran cada vez mejor definidas, todavía debían de pasar varios años antes de englobar todos estos síndromes bajo la denominación de Talasemia. Fué en 1963, cuando triunfa la designación de Whipple y Bradford como "thalasemia" tal como se la conoce hoy día universalmente, y que abarca junto a las formas graves de anemia de Cooley, formas intermedias en gravedad e incluso formas inaparentes y, desde luego, no anémicas.

El aspecto genético de la talasemia nació muy pobremente, ya que sus descubridores, Cooley y Lee (1925), le dieron simplemente el calificativo de "familiar". En 1935, Micheli y en 1937, Angelini, investigan la sangre de los padres, aparentemente sanos, de niños con el cuadro clínico de la anemia de Cooley, y encuentran en ellas las anomalías morfológicas de los hematíes propias de este síndrome.

Caminopetros, en 1938, califica a la talasemia como un carácter mendeliano recesivo. Gatto (1942), designa la heterozigosis como estigma y la homozigosis como enfermedad; posteriormente Silvestroni y Bianco (1943, 1944, 1945, y 1946) definen el rasgo talasémico como "microcitemia" (M) y que en homozigosis originaría la anemia de Cooley.

Al conocerse formas clínicas intermedias, Dameshek (1943), Chini y Valeri (1949), Astaldi y Tolentino (1952), que no se adaptaban a la teoría propuesta por Gatto, se sugirió la existencia de un efecto poligénico, que muy discutido en un principio, ha sido concretado por Itano (1953) y Heaver y White (1962). Para Gatto, en cambio, las formas intermedias se explicarían por la variable expresividad de un gen.

Numerosos han sido los descubrimientos que han contribuido a aclarar, en parte, el problema genético de la talasemia.

-Silvestroni y Bianco (1944) hallan el primer caso de doble heterozigosis de talasemia y he-

hemoglobina S.

- Yoshie (1948) encuentra una hemoglobina alcali-resistente en los enfermos de talasemia y en sus familiares, hemoglobina que más tarde fué identificada como la hemoglobina normal del feto. De esta forma, al carácter genético M (microcitemia), se añade ahora el F (hemoglobina fetal).

- Kunkel y Wallenius (1953) identifican la hemoglobina A₂, fracción existente en la sangre del adulto normal en la proporción de 1-3%, pero que en gran parte de los talasémicos se encuentra aumentada, constituyendo el tercero (M.F.A.) de los caracteres hereditarios del síndrome talasémico.

- Ingram y Rhinesmith y colaboradores (1957) contribuyen con sus trabajos a establecer la estructura molecular de la hemoglobina, que hoy se considera formada por cuatro cadenas polipeptídicas unidas a un grupo hemo.

- Otro carácter hereditario, propuesto por Bendler y Huang (1963), lo constituiría la diferen-

te actitud metabólica frente al hierro observada en individuos talasémicos; en efecto, en sujetos afectados de talasemia mayor ó menor, la absorción de hierro está aumentada, produciendo hipersideremia y hemosiderosis.

- Las experiencias de Bannermann (1959,1964) parecen indicar que el defecto talasémico podría localizarse en el grupo hemo y no en la síntesis de la globina; el problema está en que todavía no se ha encontrado confirmación definitiva a esta hipótesis.

- Parecen más acertadas las ideas de Ingram (1964), que suponen a la talasemia como una mutación, cuyo resultado sería una producción deficiente de la molécula ARN mensajero localizado en las cadenas alfa, en el caso de la alfa-talasemia, en las cadenas beta en el caso de las beta-talasemia, y en las cadenas delta en el caso de la delta-talasemia. Dicho mensajero defectuoso, se incorporaría a los ribosomas en la forma normal, pero a causa de su defecto, bloquearía la actividad sintética

de tales ribosomas, lo que conduciría a una producción de cadenas polipeptídicas reducida e incluso suprimida totalmente según la severidad del defecto.

5310045412

No parece correcto admitir una mutación en el caso de las cadenas gamma, dichas cadenas forman un dímero en la hemoglobina del feto, la cual necesita unas determinadas condiciones de solubilidad y oxigenación que no poseen otras hemoglobinas normales, además su mecanismo de formación no está maduro en el nacimiento y finalmente el tetrámero alfa₄ (que podría suponerse como sustituto de la hemoglobina F) no parece viable, ó al menos no se ha identificado todavía. Se deduce pues, que la deficiencia de hemoglobina F tendría que constituir un factor letal muy precoz.

Conviene destacar que aunque no existan datos referentes a la talasemia anteriores a los mencionados de finales de siglo, parece cierto que este síndrome ha azotado los países ribereños del Mediterráneo durante su historia, y más aún, según

los datos recogidos en el artículo de Zaino (1964) parecen identificarse casos de talasemia en calaveras infantiles del paleolítico.

La atribución geográfica de la talasemia a los países mediterráneos no es cosa que pueda admitirse hoy día, ya que la talasemia ha sido encontrada en países muy distantes del Mediterráneo tales como Irán, Costa de Asia, Indonesia, Filipinas, gran parte de Africa y por supuesto en América, pero en este caso se trata de descendientes - de europeos ó asiáticos.

En el resto de Europa, se ha descrito, en Alemania por Grasser (1941), en Inglaterra por Calender y colaboradores (1961) y en Francia por Orsini y Boyer (1961).

Por tanto, podemos concluir diciendo que ni se dá únicamente en el Mediterráneo, ni es exclusiva de la raza blanca, ya que entre los negros y asiáticos se han encontrado individuos afectados.

3a. JUSTIFICACION DE ESTE TRABAJO

A pesar de que datos relativos tanto al favismo (manifestación clínica del déficit de G6PD) como de la talasemia, ya se habían publicado en España (Surinyach, 1950, 1951 a, 1951 b, 1952 a, 1952 b, 1952 c; Guerraire Nunes y col. 1952; Alsché 1953; Pons Cachet 1957; Guasch 1959; Pelliser y Canado 1967; Weissner 1968; y en lo que respecta a la talasemia, los trabajos de Jagg, Alon, y Paniagua, 1942; Jimenez Diaz y col. 1942; Bonmati, 1949; Fortena Boyer 1950; Beltrán Báguena, 1953; Carbonell Juanico y Misrach 1954; Martín Pérez 1957; Elósegui; Guasch; Guasch y Farreras; Collado y Sanchez Fayós; Sayasua; Cruz Hernandez; Román, Cardovilla, Weissner y Martí 1966; Pelliser 1966, 1967 a, 1967b, 1969; etc...), hay que reconocer que se trataba de manifestaciones aisladas, en la mayoría de los casos procedentes de observaciones clínicas y que por lo tanto no permitían establecer unas conclusiones definitivas respecto a la frecuencia de ambas taras (déficit de

G6PD y Talasemia) en la población española.

El objeto de este trabajo ha sido determinar la frecuencia de talasemia y déficit de G6PD en varias provincias españolas con el fin de comprobar la distribución de este polimorfismo y los factores que influyen en su sostenimiento y prevalencia en ciertas poblaciones, a pesar del efecto negativamente selectivo que ejercen.

Las provincias en las que se ha realizado esta investigación han sido: Cáceres, Badajoz, Ciudad-Real, Guadalajara, Cuenca y Albacete. La justificación de esta elección es clara si se tienen en cuenta los diferentes grados de paludismo que han afectado a estas provincias antes de iniciarse su erradicación. En efecto, según los datos recogidos por Pitaluga (1923), mientras en Cáceres y Badajoz han sido provincias en que mayor grado de paludismo se ha observado; Ciudad-Real y Albacete registraron un grado medio y, finalmente en Cuenca y Guadalajara la morbilidad palúdica es escasa y la mortalidad casi nula.

De esta forma se podría comprobar no sólo la frecuencia de talasemia y déficit de G6PD, sino además, si esta frecuencia estaba o no en relación con el grado de mortalidad palúdica observado en esas zonas.

En el curso de estas investigaciones, se han observado tres casos de hemoglobinopatías, en dos de ellos se trataba de una heterosis de hemoglobinas A-C y en el tercero de una hemoglobina Lepore. Naturalmente que la determinación de estas hemoglobinas anormales no era la finalidad de esta tesis, pero por darse en este caso la circunstancia de ser las primeras de este tipo encontradas en España, se ha creído oportuno mencionarlás, pero sin darle más importancia que el ser una aportación más a este trabajo cuyo objeto, por otra parte, ha quedado aclarado en los párrafos anteriores.

II. CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS

Bajo la denominación de características bioquímicas, se consideran dos aspectos: 1º) Metabolismo de los eritrocitos humanos, considerando el papel que desempeña la G6PD, y 2º) Estructura de la hemoglobina: variaciones de las cadenas polipeptídicas - constituyentes en las talasemias y otras hemoglobinopatías.

1º.- METABOLISMO DE LOS ERITROCITOS HUMANOS:

PAPEL QUE EN EL DESEMPEÑA LA G6PD.-

Hasta hace relativamente poco tiempo, aproximadamente unos 25 años, se consideraba al glóbulo rojo como una vesícula inerte, llena de hemoglobina destinada a circular por el cuerpo durante cuatro meses, para ser finalmente aplastada contra la pared de un vaso sanguíneo y destruida en fragmentos. Actualmente se sabe que los hematies están muy lejos de responder a esta definición. Precisan un aporte continuo de energía para poder reducir la hemoglobina, que por oxidación es transformada en metahemoglo-

bina, un pigmento pardo inerte. Asimismo tienen que bombear hacia el exterior el sodio que ha penetrado en la célula. Al mismo tiempo deben de bombear hacia su interior al potasio, venciendo un gradiente electroquímico considerable. Estas necesidades de energía son satisfechas por degradación de la glucosa en ácido láctico y, en menor medida, en CO_2 .

El eritrocito maduro de los mamíferos tiene características peculiares entre los elementos celulares del organismo. Su estructura queda reducida a un citoplasma y a una membrana estructuralmente independientes. No tiene núcleo ni mitocondrias ni retículo endoplásmico.

El citoplasma contiene, además de electrolitos y metabolitos, una proteína específica, la hemoglobina, en muy elevada concentración, y en mucho menor concentración, diversas proteínas con función enzimática. La membrana está constituida por lípidos y proteínas y en ella residen también algunas funciones enzimáticas del hematie (ATP-asa; 2,3 difosfoglicerato mutasa).

Las formas del metabolismo en el hematie son, en cierto modo, idénticas a las de los otros teji-

dos, pero en oposición a la mayor parte de las demás células, el eritrocito carece de DNA y RNA, no tiene mitocondrias, por lo cual no es posible en él la existencia del ciclo de los ácidos tricarboxílicos de KREBS, no dispone tampoco del mecanismo de transporte de electrones constituido por la cadena de fermentos respiratorios o citocromos. Como consecuencia de estas características, el hematíe es incapaz de sintetizar moléculas complejas, lo que requiere reacciones altamente endergónicas, y de metabolizar grasas o aminoácidos.

Cuando el hematíe inicia su vida de 120 días de duración en la circulación, aparece ya dotado de un equipo enzimático completo. Si se destruye cualquier molécula enzimática, no puede ser reemplazada. A causa de esta incapacidad para reponer los enzimas destruidos y debido a la ausencia del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, el glóbulo rojo es especialmente sensible a las deficiencias hereditarias en enzimas glucolíticas. Mientras dispongan de una fuente de origen de ácido láctico ó pirúvico, los demás tejidos pueden formar a través del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, trifosfato de adenosina (ATP) y coenzimas nucleótidos reducidos, lo cual no pueden hacer los hematíes.

Contrariamente a lo que sucede con los glóbulos rojos, la mayor parte de los tejidos pueden formar nuevas moléculas de enzima para sustituir las destruidas, en el caso de que una deficiencia hereditaria confiera una inestabilidad particular a ciertos enzimas. De acuerdo con esto, cuando se originan anomalías en los enzimas que intervienen en el metabolismo de la glucosa, los eritrocitos resultan ser de tipo celular más vulnerable y la manifestación clínica de esta fragilidad se traduce generalmente en una anemia hemolítica.

La ausencia del ciclo de KREBS hace que el eritrocito tenga que obtener toda la energía requerida para el transporte activo transmembrana y para los procesos reparadores de carácter reductor de las únicas reacciones exergónicas que puede realizar y que son esencialmente las de la degradación glucolítica.

Esta degradación glucolítica puede seguir diferentes caminos, lo que origina importantes diferencias metabólicas. La ruta cuantitativamente más importante, es la vía de EMBDEN-MEYERHOFF, o vía anaeróbica, a lo largo de la cual el eritrocito utiliza aproximadamente el 95% de la glucosa que -

consume, produciendo aproximadamente un 75% de la energía que precisa.

En este proceso, la glucosa comienza por ser activada mediante dos fosforilaciones consecutivas, resultando la formación de fructosa 1-6 difosfato. La energía para esta activación es proporcionada por el "pool" de ATP, 2 moles por cada mol de glucosa. Estas dos reacciones están catalizadas por la Exoquinasa y la fosfo-fructo-quinasa respectivamente.

Cada molécula de hexosa difosforilada es partida en dos moléculas de triosas monofosforadas: una molécula de gliceraldehído fosfato y otra de dihidroxiacetona fosfato que a su vez se convierte en gliceraldehído fosfato.

El gliceraldehído fosfato sufre una reacción oxidativa por la acción de una dehidrogenasa, en cuyo proceso, el hidrógeno es aceptado por una molécula de DPN (NAD) que se transforma en DPNH (NADH); el resto de la energía liberada en esta reacción, es acumulada en la formación de una nueva unión de fosfato por incorporación de una molécula de ácido fosfórico inorgánico, con lo cual la molécula de triosa

monofosfato para a por una trifenil difosfato. Esta es una reacción de suma importancia para el organismo, pues es única fuente de DPNH: dos moles de DPNH por cada mol de glucosa.

En los pasos sucesivos, la energía del movimiento oníase de fosfato en posición C-1, es transportada al ATP: dos moles de ATP por cada mol de glucosa. El 1-3 fosfoglicerato resultante sufre a su vez una fosfoglucomutación seguida de una hidratación (energía) y de una nueva reacción de transporte de la unidad de fosfato en la que se ha acumulado energía al ADP con formación de otros dos moles de ATP por cada mol de glucosa. De esta forma el "pool" de ATP se véno sólo lo repuesto del consumo inicial de dos moles por cada mol de glucosa sino que se incrementa en otros dos moles de ATP por glucosa que quedan disponibles para su utilización en otros procesos que regulan el consumo de energía, tales como el transporte activo de Na y K a través de la membrana. Este proceso es realizado por la llamada "bomba de sodio" en la que intervienen, por lo menos, una de las dos ATP-asa localizadas en la membrana. El funcionamiento de esta bomba de sodio es de capital importancia para el mantenimiento de la integridad osmótica del hemático. Por otra parte, el man-

nimiento de un "pool" adecuado de ATP, en el interior del hematíe, es, al parecer, también importante para la conservación de una adecuada curva de disociación del complejo oxígeno-hemoglobina.

Hasta este punto, formación de piruvato, se ha obtenido un balance positivo de dos moles de ATP y dos moles de DPNH por mol de glucosa. Pero en el paso siguiente, conversión de piruvato a lactato, se consumen dos moles de DPNH por mol de glucosa, resultando un balance de cero para este agente reductor. Resulta, pues, que esta reacción, la de la piruvato-quinasa, reduce la de la disponibilidad de DPNH, que es el agente más importante para la reducción de la metahemoglobina a hemoglobina mediante la acción de la DPNH-dependiente metahemoglobina-reductasa o diaforasa. Para conseguir un balance positivo de DPNH, el eritrocito puede valerse de la utilización alternativa de TPN, un sustrato menos idóneo, en lugar del DPNH en la reacción de la piruvato-quinasa, o de la desviación de la secuencia metabólica hacia algún mecanismo colateral en un paso intermedio entre la reacción de generación y la de consumo del DPNH. Esta de-

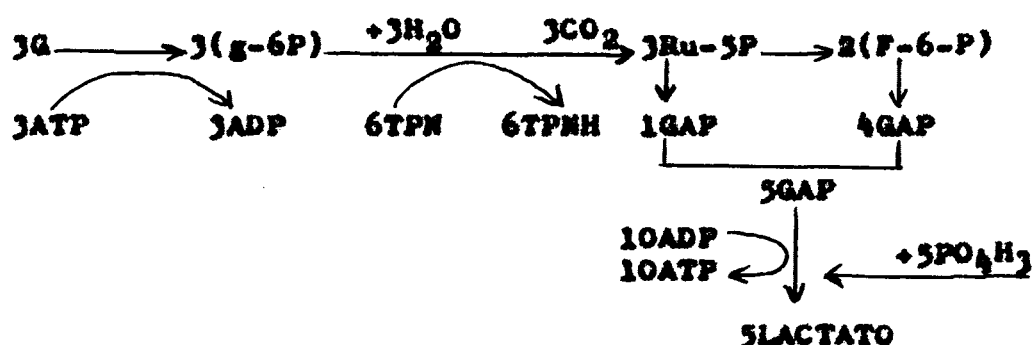
rivación la puede constituir el ciclo de RAPOPORT-LUEBERING, ó la difusión del piruvato al exterior - del hematie.

Una segunda ruta de la glicolisis está constituida por el ciclo de las pentosas ó de la exosa -- monofosfato, ciclo aeróbico. Generalmente el hematie metaboliza del 3 al 11% de la glucosa que consume - por esta vía, con lo que produce aproximadamente el 25% de sus necesidades energéticas. En condiciones de sobrecarga oxidativa, la actividad de esta vía puede hacerse 10 ó incluso 20 veces mayor. La importancia - de esta vía reside en que es la única fuente que tiene el hematie de TPNH (NADPNH), agente reductor que juega un papel central en diversos mecanismos antioxidativos del hematie.

Se inicia el ciclo con la glucosa 6 fosfato que sufre una dehidrogenación a 6 fosfogluconato, pase oxidativo en que el hidrogenión es aceptado por - una molécula de TPN con formación de TPNH. A continuación se produce una reacción de hidrólisis, dehidrogenación y descarboxilación de C-1 cuyo resultado es el consumo de un mol de agua y producción de un - mol de CO₂, un mol de Ribulosa 5 fosfato y un mol de

TPNH por mol de glucosa. Mediante una serie de reacciones, en el curso de las cuales se producen pentosas, tetrasas, triosas, eptosas y exosas, resultando al final, por cada tres moles de glucosa metabolizadas por esta vía, se forma una de gliceraldehido-3-fosfato y dos de fructosa-6-fosfato, intermediarios que se reincorporan al ciclo de EMBDEM-MEYERHOFF. La fructosa-6-fosfato puede convertirse nuevamente en glucosa-6-fosfato y volver al ciclo de las pentosas; esto no sucede con el gliceraldehido-3-fosfato. Normalmente el grado de recirculación por el ciclo de las pentosas es muy escaso, pero en condiciones de sobrecarga oxidativa puede alcanzar proporciones relativamente altas.

Podemos esquematizar el ciclo de las pentosas de la siguiente forma:



Partiendo de tres moles de glucosa se obtienen: 3 de lactato, 3 de CO_2 , 7 de ATP y 6 de TPNH mientras que en la metabolización de tres moles de

glucosa en el ciclo de EMBDEM-MEYERHOFF solo se obtienen 6 moles de lactato y 6 de ATP.

Comparando los resultados obtenidos en las dos vías, se observa que en el ciclo de las pentosas se produce 1 mol de ATP y 6 moles de TPNH más que en el ciclo de EMBDEM-MEYERHOFF, lo cual explica que con solo un 3% aproximadamente de glucosa a través de la vía de las pentosas el eritrocito produzca un 25 % de energía.

El alto rendimiento de TPNH en el ciclo de las pentosas, puede ser un mecanismo por el que el eritrocito obtenga, indirectamente, un balance positivo de DPNH, al utilizar TPNH como sustituto del DPNH en la reacción de la piruvico-quinasa. Un segundo posible mecanismo para la obtención de un balance positivo de DPNH, lo constituye el ciclo de RAPOPORT-LUEBERING, que hace de vía derivativa entre el 1-3 difosfoglicerato, con la producción de un intermedio, el 2-3 difosfoglicerato; de esta forma se produce la liberación de fosfato inorgánico y se evita la formación de ATP (cosa que ocurriría si se pasase directamente de 1-3 difosfoglicerato a 3-fosfoglicerato). La acumulación de cantidades excesivas de ATP, inhibiría la continuidad del proceso glicolítico y por otra parte

perturbaría la curva normal de disociación del complejo Hb-oxígeno. En el mantenimiento de una curva de disociación adecuada, juega un papel muy importante el 2-3 difosfoglicerato, que es, con mucha diferencia, el metabolito fosforilado más abundante dentro del eritrocito, donde llega a constituir un 50% de todos los -- productos fosforilados. Esta alta concentración sirve también de reserva energética en condiciones de privación de glucosa.

Conviene aclarar que el ciclo de las pentosas, es en definitiva tan anaeróbico (es decir, no dependiente del oxígeno molecular) como el ciclo de KREB-DEN-MEYERHOFF. En él se produce CO_2 a expensas del consumo de una molécula de H_2O con incorporación de los -- hidrogeniones en la reacción de TPN a TPNH.

Por otra parte, el eritrocito consume oxígeno, pero este consumo no es "respiratorio" en sentido estricto, es un consumo "accidental" derivado de la oxidación de grupos reductores del hematie por el oxígeno, presente en el hematie en alta concentración, con formación de agua. Estos grupos oxidados son regenerados por el TPNH precedente de la decarboxilación de la glucosa. El resultado final es el de una aparente, no

verdadera, respiración. Estos fenómenos pueden ser considerablemente aumentados in vitro, si se añade al sistema de incubación cualquier sustancia redox (asul de metileno ó vitamina C) que facilite la transferencia de electrones entre las sustancias reductoras y el oxígeno, función que en otras células es ejercida por los citocromos o fermentos respiratorios.

Tenemos, pues, que mediante un adecuado balance entre las diferentes vías glucolíticas, el hematie puede producir compuestos de alta energía de uno u otro tipo según los requerimientos en los procesos de transporte de membrana (ATP) y de protección y reparación antioxidativas (DPNH y TPNH).

Es importante además, el papel del TPNH como agente reductor para mantener el glutatión en estado reducido, el cual a su vez actúa como agente reductor de importancia central en el mantenimiento de la integridad celular.

Una de las principales funciones del glutatión, es la protección del hematie contra la acción oxidante del agua oxigenada que se forma en el interior del hematie por reacción directa del oxígeno molecular a alta concentración con el agua, proceso que es cata-

lisado por sustancias como el ascorbato, fenilhidrazina, primaquina, etc.

El glutatión reducido tiene como misión mantener en estado reducido los grupos tioles lábiles - (-SH) evitando, mediante acciones competitivas y restauradoras la formación de grupos disulfuros (-S-S), que alteran la estabilidad de las proteínas tanto enzimáticas como estructurales de la membrana, o de la propia hemoglobina.

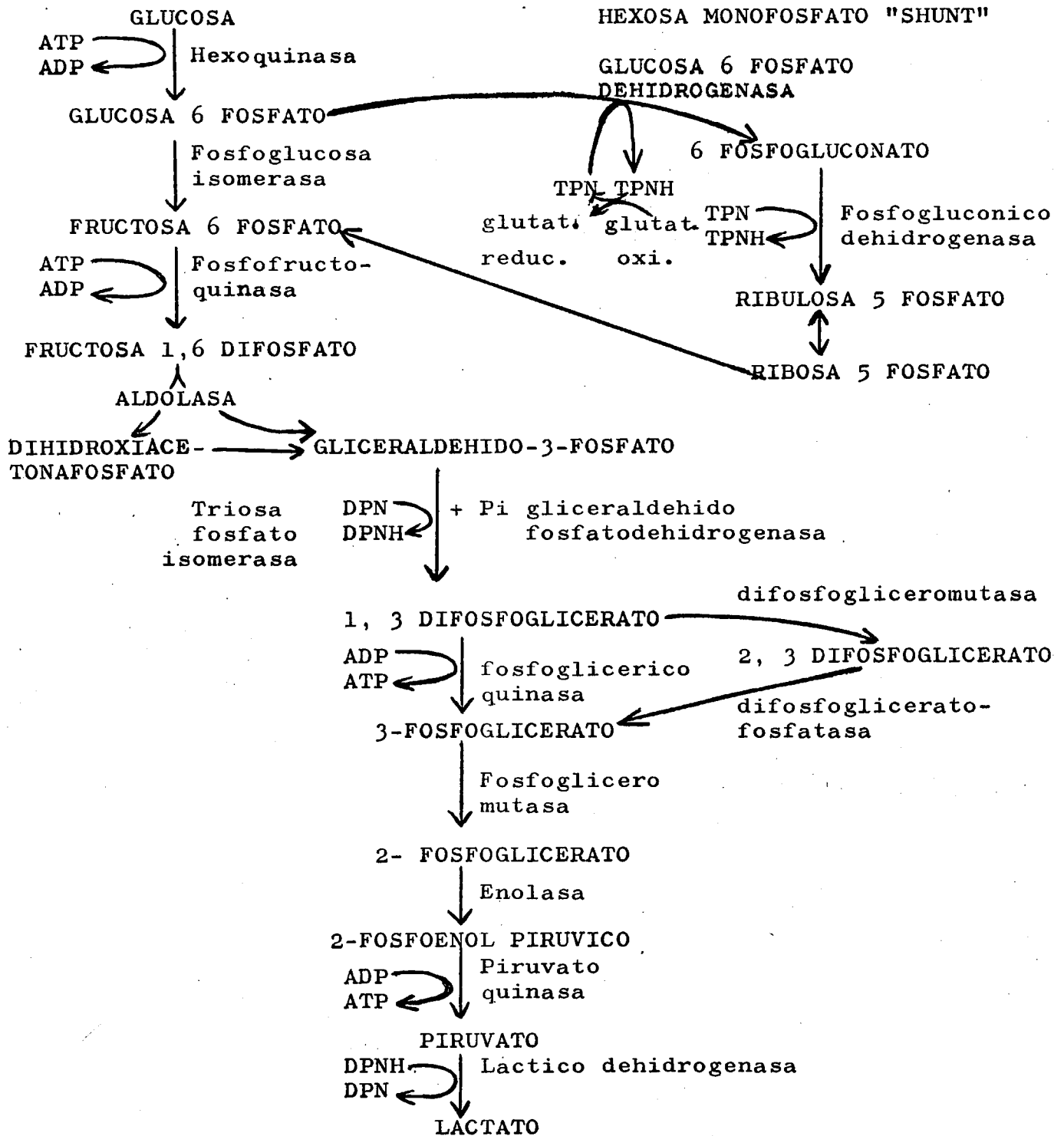
Actualmente se ha podido demostrar que un grupo muy heterogéneo de anemias hemolíticas congénitas, cuya causa no se conocía, están provocadas por errores congénitos del metabolismo energético del eritrocito, errores que pueden localizarse en cualquiera de sus ciclos: EMBDEM-MEYERHOFF, PENTOSAS, RAPOPORT-LUEBERLING, o bien por mecanismos reductores antioxidativos.

La G6PD interviene en la glucólisis aeróbica ó "shunt" de las pentosas, favoreciendo la regeneración del trifosfopiridín nucleótido reducido (TPNH), necesario a su vez para mantener el glutatión en su forma reducida. Si existe un déficit de G6PD, disminuye la concentración intraeritrocitaria de glutatión reducido y

de este modo el hematíe se vuelve muy sensible a la acción de numerosas sustancias oxidantes, con aparición de cuerpos internos de Heinz, envejecimiento prematuro y la destrucción consiguiente.

A continuación se da un esquema del metabolismo de los eritrocitos humanos.

METABOLISMO DE LOS ERITROCITOS HUMANOS



2º.- ESTRUCTURA DE LA HEMOGLOBINA: VARIACIONES DE LAS CADENAS POLIPEPTIDICAS CONSTITUYENTES EN LAS TALASEMIAS Y OTRAS HEMOGLOBINOPATIAS.

La hemoglobina es un pigmento rojo, intracitocítico de la sangre, que por actuar como principal fermento respiratorio transporta el oxígeno desde el pulmón a los tejidos. Su estructura química es la de un cromoproteido, constituido por un grupo prostético ferroprotoporfirínico, llamado hemo y una fracción proteica heterogénea llamada globina. Esta última está constituida por cuatro cadenas polipeptídicas. Cada cadena polipeptídica posee unos 140 aminoácidos situados uno a continuación de otro en forma de "secuencias" ó eslabones regulares y propios de cada cadena. Puesto que la molécula hemoglobínica posee cuatro cadenas polipeptídicas, existe también engarzado en cada una de ellas, su correspondiente grupo ferroprotoporfirínico, es decir, que existen en total cuatro ferroprotoporfirinas.

La hemoglobina es, pues, una macromolécula integrada por un tetrámero, cuyo peso molecular es de 68.000, diseciable en dos subunidades de 34.000 (dímeros) o cuatro de 17.000 (monómeros). Los cuatro que forman la hemoglobina del adulto, Hb. A, están unidos por fuerzas intramoleculares, pero no por uniones químicas ni polares. Los cuatro monómeros de la hemoglobina A se agrupan en forma de dos pares de cadenas polipeptídicas, dímeros, iguales dos a dos (dos α y dos β).

La hemoglobina del adulto, Hb. A, tiene por tanto de fórmula ($\alpha_2 \beta_2$), pero en la sangre del hombre adulto normal, la hemoglobina A representa entre el 96 y el 98% del total y el resto está integrado por hemoglobina fetal, que oscilaría del 0,25 - 0,75% y otra hemoglobina A_2 , cuya proporción varía entre 1-3%. Estas dos últimas hemoglobinas difieren de la hemoglobina A, en que no poseen cadenas polipeptídicas β , en su lugar poseen otras dos cadenas cuya serie de aminoácidos no poseen igual disposición o secuencia y por ello han recibido los nombres de cadenas γ y δ .

Hemoglobina A del adulto $\alpha_2\beta_2$

Hemoglobina F fetal: $\alpha_2\gamma_2$

Hemoglobina A₂ pequeña Frac.: $\alpha_2\delta_2$

La estructura de los diversos aminoácidos en las cadenas polipeptídicas integra la estructura primaria de la globina. La cadena α tiene 141 aminoácidos y la cadena β , 146, por tanto, en la molécula de hemoglobina A existe un total de 574 aminoácidos.

En las hemoglobinas patológicas la anomalía estriba en un cambio y alteración en la secuencia de aminoácidos de forma que uno o varios de ellos (ó incluso toda la cadena) son suplantados por otros. En 1949, Pauling y colaboradores, describen la hemoglobina S de la drepanocitosis y demuestran que dicha hemoglobina S es distinta a la hemoglobina A normal del adulto y que el fenómeno de "Sickling" ó aparición de hematies falciformes, dependía de la presencia de la citada hemoglobina anormal. En 1956, Ingram aclaró bioquímicamente en qué consistía la anomalía de la hemoglobina S, al demostrar que en la posición 6ª de la cadena beta existía, en vez de ácido glutámico, el aminoácido valina. En la hemoglobina C, en la misma -

posición y también en la cadena beta, existe en vez de ácido glutámico, el aminoácido lisina.

Esquemáticamente estos cambios se pueden representar así:

Hb A: VAL-HIS-LEU-TRE-PRO-GLU-GLU-LIS

Hb S: VAL-HIS-LEU-TRE-PRO-VAL-GLU-LIS

Hb C: VAL-HIS-LEU-TRE-PRO-LIS-GLU-LIS

Alteraciones afines, o sea, sustitución de un aminoácido por otro, se han hallado luego en numerosas hemoglobinas anormales que se han ido aislando y que se designan con las letras del alfabeto: D, E, G, H, I, J, K, L, M, O, P, Q, y además por haberse ya agotado estas, con el nombre de la localidad donde se descubrió la hemoglobina.

Con el término hemoglobinopatía, se designaría, pues, la presencia en la sangre del individuo de una hemoglobina anormal. La causa residiría en la posesión de un gen anómalo entre los que regulan la síntesis proteica y que sería responsable de la citada anomalía bioquímica, consistente en la sustitución de un aminoácido por otro.

Pero al lado de estas hemoglobinopatías, ca-

racterizadas por la defectuosa síntesis de un aminoácido, es preciso mencionar la existencia de otras en las que queda inhibida la síntesis, no solo de un aminoácido, sino de toda una cadena polipeptídica de la hemoglobina. Se trata de las llamadas talasemias, que se subdividen, según sea la cadena polipeptídica inhibida, en beta-talasemia, alfa-talasemia y delta-talasemia.

En la beta-talasemia, al existir dificultad en la síntesis de las cadenas beta, hay una formación disminuida de hemoglobina A ($\alpha_2\beta_2$) y las cadenas α sobrantes, se unen a las γ ó δ (producidas en exceso), originándose un exceso de hemoglobina F ($\alpha_2\gamma_2$) ó de hemoglobina A₂ ($\alpha_2\delta_2$), respectivamente.

En la alfa-talasemia, por trastorno en la síntesis de las cadenas alfa, hay dificultad en la formación de las tres hemoglobinas normales Hb A, Hb F y Hb A₂, puesto que las cadenas α entran en la composición de todas ellas. Ello es causa de que puedan formarse dos hemoglobinas patológicas. En la primera época de la vida, cuando normalmente predomina la síntesis de la hemoglobina F y al haber dificultades en la síntesis de las cadenas α , queda un sobrante de cadenas γ que se polimerizan, formando un tetramero llama-

de hemoglobina Bart's (γ_4). Una vez rebasada la época fetal ó iniciada la que normalmente se caracteriza por la síntesis predominante de la hemoglobina A, se forma un sobrante de cadenas β que también se polimerizan y forman un tetramero, la llamada hemoglobina H (β_4). Se comprende así, el que por dificultades de síntesis de toda una cadena globínica pueden aparecer hemoglobinas anormales, pero sin que su anomalía estribé en la sustitución de un aminoácido por otro, sino en una polimerización excesiva de cadenas normales.

En la delta-talasemia, existen dificultades en la síntesis de las cadenas δ . A consecuencia de ello la pequeña cantidad normal de hemoglobina A_2 ($\alpha_2\delta_2$) que oscila de 1-3%, desaparecería por completo.

30.- HEMOGLOBINAS ANORMALES.

Como ya se detalla en la introducción, también se han considerado en este trabajo las hemoglobinas C y Lepore, cuya estructura se detalla a continuación:

La hemoglobina C posee dos cadenas polipeptídicas α idénticas a las de la hemoglobina A; las cadenas β de la hemoglobina C difieren de las de la hemoglobina A, por poseer en la 6ª posición el aminoácido lisina, en vez de ácido glutámico. Esta sustitución, puede suceder bien en las dos cadenas β ó bien en una sola.

En la hemoglobina Lepore, se ha demostrado que existen dos cadenas α normales, pero que sus dos restantes cadenas están compuestas por cadenas mixtas teniendo una porción β y otra δ .

III. SINTOMAS CLINICOS

12.- DEFICIENCIA DE G6PD EN LOS HEMATIES.

La deficiencia en G6PD es una anormalidad enzimática de la célula roja muy difundida y posiblemente de gran importancia en clínica. Una carencia de esta enzima, fué descubierta por primera vez (Cordes, 1926), en individuos de raza negra sometidos a tratamiento con primaquina, droga antimalarial. Se observó que algunos de estos pacientes mostraban una anemia hemolítica aguda con ictericia, orinas oscuras y una rápida caída de nivel de hemoglobina en la sangre, cuando estas drogas eran administradas.

Estudios de transfusiones de células rojas marcadas con Cr 51, demostraron que la sensibilidad a la primaquina era debida a una anormalidad intrínseca del eritrocito. Pronto se encontró que las células rojas sensibles a la primaquina (primaquin-sensitivas) eran sensibles no sólo al efecto hemolítico,

sino también a un número de drogas y medicamentos.

Una relación de compuestos que pueden provocar selectivamente hemólisis de células rojas primaquin-sensitivas, se da a continuación:

Antimalaricales:

Cloroquina
CN 1115 (quinocida)
Pentaquina (mepacrina)
Quinaquina (atebrina)
CN 1110
Pamaquina (plasmaquina)
Primaquina
Quinina

Antipiréticos y analgésicos:

Acetanilida
Aminopiridina (piramidón)
Fenacetina
Acido acetil-salicílico
Antipirina

Sulfonamidas:

Dimetilbenzoesulfanilamida
Salicilazosulfapiridina
Sulfanilamida
Sulfisoxazol (gantrisona)
N-acetil sulfanilamida
Sulfacetamida

Sulfametoxipiridamina
Sulfapiridina

Nitrofuronas:

Furaltadona
Nitrofurantoína
Furasolidona
Nitrofurazona

Sulfonas:

Diaminodifenil sulfona (DDS)
Tiasulsulfona (promisol)
Sulfoxona (Diasona)

Otras drogas:

Acetilfenilhidrazina
Acido aminosalicílico
Cloramfenicol
Dimercaprol (BAL)
Azul de metileno
Naftaleno
Fenilhidrazina
Probenecid (Benecid)
Quinidina
Trinitrotolueno
Vitamina K
Acido ascórbico

Al ser investigada la hemólisis inducida por la primaquina, se observó un sorprendente fenómeno. La anemia hemolítica estaba autolimitada, ya que pa-

sados algunos días de la administración de drogas antimalariales, la hemólisis disminuía espontáneamente y el nivel de la hemoglobina volvía a ser normal, aunque fuese administrada igual dosis de droga que la que inicialmente indujo la hemólisis e incluso doble dosis.

Estudios de radioisótopos con Fe 59, demostraron que este fenómeno era debido a una selectiva sensibilidad de los miembros viejos de la población de células rojas. De esta forma, se demostró que las células rojas eran ligeramente deficientes en la reducción del glutatión y que eran incapaces de proteger su glutatión contra "stress" oxidantes. Así pues, la incapacidad de las células rojas para proteger su glutatión, fué definido como una deficiencia del primer enzima del ciclo de la hexona - monofosfato, esto es, la G6PD. Se ha manifestado - que la deficiencia en G6PD es genéticamente, bioquímicamente y clínicamente un desorden heterogéneo.

Desde el punto de vista clínico, el déficit de G6PD se puede presentar bajo cuatro formas distintas:

10. Anemia hemolítica por sensibilidad toxicomedicamentosa.

22. Ictericia de los recién nacidos.

32. Anemia hemolítica del favismo.

42. Anemia hemolítica congénita no esfereolítica.

19.- Anemia hemolítica por desencadenamiento tóxico-medicamentoso.-

Conocida la naturaleza de las anemias hemolíticas por hipersensibilidad a la primaquina, se pudo determinar que muchas otras hemolisis aparentemente "idiosincrásicas" formaban parte de este grupo. Incluía, sin duda alguna, a una variedad de anemia hemolítica aguda que bajo el nombre de fiebre biliosa hemoglobinúrica, ó "Schwarzwasserfieber" de los alemanes, se describía como entidad aparte, en algunos palúdicos tratados con quinina. También se podían incluir otras anemias hemolíticas agudas, aparentemente "idiosincrásicas" en relación a diversos tóxicos y medicamentos.

El cuadro clínico ofrece las siguientes características: unos días después de la administración del medicamento responsable, el sujeto sufre un proceso hemolítico agudo, cuyo máximo se alcanza entre el 8º y el 10º día. Aparecen abundantes cuerpos de Heins y pueden destruirse hasta un 30 %

de los hematias. Posteriormente, el individuo entra en un periodo de compensación, que oscila entre los 10 y los 40 días, y que se caracteriza por una intensa reticulocitosis y disminución de los cuerpos de - Heinz. Se presenta, finalmente, una fase de resistencia con una hemolisis muy moderada de fácil compensación. Superada ésta, pueden provocarse nuevos accidentes hemolíticos con idéntica evolución.

La explicación biológica de este cuadro clínico es la siguiente: en un primer periodo se hemolizan los hematias viejos, cuyo contenido en G6PD - está muy reducido, mientras que por el contrario, -- los reticulocitos y hematias jóvenes, por contener mayor cantidad de esta enzima, resisten mejor al insulto toxico-medicamentoso. De este modo se comprende la segunda fase de relativa estabilización del proceso, así como la posibilidad de que el cuadro se resquebraja cuando haya envejecido una notable proporción de la población eritrocitaria. A la vista de estos hechos, fácilmente se intuye que no debe realizarse la dosificación de la enzima eritrocítica en plena crisis hemolítica, ya que tras ella únicamente quedan - hematias cuyo nivel enzimático no está muy reducido y por tanto los resultados obtenidos no corresponderían a la realidad.

2a.- Ictericia de los recién nacidos.-

La insuficiencia de G6PD puede jugar un papel importante en el desencadenamiento de la ictericia en los recién nacidos, en ciertos pueblos del Mediterráneo y entre los chinos. Una forma clínica particular, la constituyen aquellos lactantes con déficit de G6PD que bajo la influencia de vitamina K sintética, a veces administrada a la madre, desarrollan una anemia hemolítica grave, con cianosis y riesgo de ictericia nuclear. Se caracteriza además, por presentar una gran cantidad de corpúsculos de Heinz.

3a.- Anemia hemolítica del favismo.-

La ingestión de habas y mucho más raramente la simple inhalación del polen de esta leguminosa, por individuos con especial sensibilidad a ellas, puede determinar una grave enfermedad hemolítica - llamada favismo.

Su cuadro clínico fundamental es el de una anemia hemolítica hiperaguda que evoluciona en 24 ó 48 horas con fiebre, ictericia y descarga hemoglobinúrica. El primer contacto no basta nunca para --

causar la enfermedad, y ésta, aunque sólo es frecuente en Italia, Menorca, Cerdeña y Norte de África (países bañados por el Mediterráneo) se ha encontrado también entre los chinos y depende de la herencia de unos hematies carentes de G6PD y glutatión estable.

Se trata sólo de un aspecto clínico particular del déficit enzimático de G6PD, ya que todos los enfermos afectados sufren una deficiencia en G6PD, pero lo contrario no siempre es cierto, de modo que la mayor parte de sujetos que presentan una insuficiencia de G6PD, son insensibles a la acción hemolítica de las habas. Es de suponer, por tanto, la existencia de algún factor suplementario, de tipo inmunológico (Larizza y col., 1960) ó incluso genético, indispensable para provocar dicha enfermedad.

Los meses de abril a julio son los más adecuados para la manifestación de la enfermedad, ya que coinciden con la época de las habas. Una anemia muy similar ó igual a ésta del favismo, es la adquirida por sensibilidad al polen de las habas y otras flores y que se conoce por el nombre de "anemia primaveral de Bagdad". Las crisis duran de dos a seis

días y durante ellas, la cifra de eritrocitos des-
ciende hasta uno ó dos millones.

**42.- Anemia hemolítica congénita no esfe-
rocítica.**

Se trata de un grupo muy heterogéneo de
afecciones, caracterizadas por una anemia hemolí-
tica hereditaria a la que no se asocia una esfe-
rocitosis (los hematies son de aspecto normal) ,
eritrocitos con resistencia osmótica reducida ó
anomalías de la hemoglobina. El origen de la en-
fermedad es desconocido en aproximadamente la mi-
tad de los casos. En muchos enfermos, sin embargo,
se ha podido demostrar claramente una deficiencia
enzimática.

Aunque los enfermos afectados de estas de-
ficiencias enzimáticas eritrocíticas no ofrecen,
en la mayoría de los casos, más síntomas clínicos
de tipo hematológico, hay, no obstante, excepcio-
nes. En algunos casos de anemia hemolítica congé-
nita no esferocítica, originada por variantes pe-

co frecuentes de deficiencia en G6PD, se han observado cataratas, fenómeno que no es de extrañar ya que las células del cristalino comparten con los hematies la particularidad de no poseer - ni ciclo de los ácidos tricarboxílicos, ni núcleo, lo cual explicaría su vulnerabilidad en caso de - una deficiencia de enzimas glucolíticos.

22.- ASPECTOS CLINICOS DE LA TALASEMIA.-

Con el nombre de talasemia se designan, - hoy día, una serie de anemias hemolíticas hemoglobi-nopáticas, cuya alteración no estriba en la sus-titución de alguno de los aminoácidos de las cade-nas globínicas, sino en la dificultad de la sín-tesis de toda una cadena polipeptídica de la glo-bina. Este tipo de anemias hemolíticas hemoglobi-nopáticas se observa, preferentemente en indivi-duos de diversos países mediterráneos (italianos, griegos, egipcios, españoles, sirios, etc.) pe-ro no es exclusivo de ellos, ya que se han encon-trado también en Oriente, China, Estados Unidos, Inglaterra, Suiza, etc.

Las dificultades en la síntesis de la he-moglobina conducen en todas las talasemias, a la producción de hematies hipocromos, con el consi-guiente aumento de la resistencia osmótica total. Pero, A diferencia de las hipocromias por ferro -

penia, en las talasemias queda hierro sobrante, tanto en el plasma (hipersideremia) y médula ósea (aumento de sideroblastos) como en el hígado (hemosiderosis secundaria).

Dentro de las talasemias y de acuerdo con la cadena polipeptídica inhibida, cabe distinguir tres tipos de talasemias:

1º.- Beta Talasemia

2º.- Alfa Talasemia

3º.- Delta Talasemia.

1º.- BETA TALASEMIA.- Corresponde a la forma clásica de la enfermedad y se exterioriza clínicamente bajo tres formas distintas, que atendiendo a su gravedad decreciente, se puede clasificar así:

a) Talasemia mayor ó anemia de Cooley,

b) Talasemia menor ó anemia de Rietti-Greppi-Micheli, y

c) Talasemia mínima de Silvestroni y Bianco.

a) Talasemia mayor ó anemia de Cooley.- Fue descrita por Cooley y Lee en 1925, en inmigrantes que procedentes de diversos países mediterráneos, ha-

bían llegado a América. Es una enfermedad de base familiar y racial muy abundante en los países mediterráneos. La sufren en particular niños de 1 a 5 años; su curso suele ser lento y durar hasta 10 años; los casos en adultos son raros. Los dos sexos padecen por igual esta enfermedad.

Como caracteres clínicos típicos de la talasemia mayor, se pueden citar: una anemia crónica progresiva; va acompañada de alteraciones óseas generalizadas tales como facies mongoloide (preminencia de arcos zigomáticos y del maxilar superior); cráneo en "cepillo" (en el examen roentgenológico del cráneo se observa que su superficie presenta un perfil radiado integrado por multitud de espiculas. La medular del diploe, al hiperplaciarse y proliferar perpendicularmente sobre la tabla interna, se levanta en forma discontinua como las cerdas de un cepillo o las de un puerco espín, o los cabellos erizados); adelgazamiento de la cortical ósea de los huesos de las manos; ensanchamiento de la medular y diploe craneal; esponjosa costal y

huesos de la facies con osteoporosis. El agrandamiento óseo de la esponjosa es para lograr mayor espacio para la médula eritropoyética hiperplasiada para compensar la hemolisis. Existe gran hepatoesplenomegalia.

La anemia es hipocroma y en la sangre periférica se encuentra una anisocitosis muy marcada, gran predominio de microcitos, esquistocitos y la forma apianada de los glóbulos (leptocitos). La anomalía celular que más abundantemente se halla en todas las formas talasémicas, es el dianocito, eritrocito que en el centro presenta una zona más teñida, simulando una diana de tiro al blanco (target-cell). El punteado basófilo de los hematíes es muy constante en la anemia de Cooley, pero lo más notable es la presencia en sangre circulante de hematíes con variable grado de madurez, desde el pre-eritoblasto hasta normoblastos finales.

La resistencia osmótica de los hematíes está aumentada al igual que en la mayoría de las anemias hipocromas, que por ser pobres en hemoglobina,

pueden -ante soluciones hipotónicas- captar mucha agua antes de romperse.

La hemoglobina corpuscular media está muy reducida y la total no suele superar los 7 grs.%. Las plaquetas son normales. El número de leucocitos es generalmente elevado, tanto en tejido medular como en sangre periférica. Hay hipersideremia y aumento del hierro medular, así como de los sideroblastos. Al determinar las diferentes hemoglobinas, se halla más del 50% de Hb. F (en vez del 0,25 al 0,75% normal) y más del 3,5% de Hb.A₂ - (normal del 1 al 3%). Se sabe además, que la hemoglobina F hallada en los talasémicos no es totalmente idéntica a la hemoglobina F obtenida de la sangre de cordón umbilical, y existen familias con persistencia de hemoglobina F normal sin ninguna enfermedad ni anomalía de las registradas en la talasemia (anemias aplásticas).

La mayoría de los talasémicos de Cooley o de tipo mayor, fallecen antes de los 6 años, con trombosis encefálicas o pulmonares, ó infecciones

resurrentes. Algunos llegan a los 16 años, pero por falta de desarrollo sexual, no se reproducen.

En la forma mayor ó anemia de Cooley, el gen talasémico se encuentra en estado doble, homocigótico, siendo las anomalías eritrocitarias máximas. Los hematíes anormales tienen una vida extremadamente corta y la síntesis de la hemoglobina muy perturbada; se compensa por la puesta en marcha de una hemoglobínogénesis de tipo fetal, in suficiente cuantitativa y cualitativamente. La hemólisis es muy intensa. Finalmente es posible, además, que el gen talasémico ejerza en su estado homocigótico una acción distrofiante directa sobre determinados órganos contribuyendo así a la evolución fatal de la talasemia mayor.

b) Talasemia minor ó anemia de Rietti-Greppi-Nichelli. - Ha sido denominada también eliptocitoanemia - hipercrónica de Fanconi, anemia de Cooley del adulto, etc. Es probablemente más frecuente que la anterior, pero menos diagnosticada por seguir un curso clínico más benigno y menos característico. La

palidez, la ictericia y las alteraciones esqueléticas, son siempre menos evidentes, la evolución más lenta y el pronóstico más favorable, predominando los niños mayores y adultos.

No hay eritroblastosis periférica, ni hematopoyesis extramedular. En los hematíes hay menos formas en diátesis y más poiquilocitos y esquistocitos ó fragmentocitos. La hemoglobina no desciende ordinariamente por debajo de los 10 grs. %. La resistencia osmótica también está aumentada.

La fórmula hemoglobínica estudiada por electroforesis demuestra que existen aumentos de hemoglobina A_2 (normal de 1 a 3%), y también de la hemoglobina F, aunque está en proporción inferior al 50%, cantidad por encima de la cual sólo se halla en la forma mayor de la talasemia ó anemia de Cooley.

En la forma menor ó anemia de Rietti-Greppi Micheli, el gen talasémico se encuentra en estado heterocigótico y las formas clínicas, aunque próxi-

mas a las de la anemia de Cooley, no son tan graves.

c) Talasemia minima.-- Fué descubierta por Silvestroni y Bianco con el nombre de microcitemia y se caracteriza por su benignidad. Estas formas minimas a menudo pasan inadvertidas y se confunden con las anemias hipocromas corrientes si no se practica el indispensable análisis electroforético.

Silvestroni y Bianco describen, pues, una talasemia minima ó microcítica que consiste esencialmente en unos pómulos más o menos prominentes, base de la nariz deprimida con dorso nasal cóncavo con punta abultada y cierta palidez cutánea.

El cuadro hemático lo constituyen los dia-nocitos y demás anomalías celulares ya descritas - en las formas más graves, aunque por no mostrarse con tal abundancia y claridad pueden pasar desapercibidas. Respecto de la hemoglobina, se observa aumento de hemoglobina A₂ pero sin cifras anormales

de hemoglobina F.

La talasemia mínima corresponde genéticamente al estado heterosigótico. El gen talasémico en estado simple no ejerce aquí más que una ligera acción perturbadora sobre la eritropoyesis: las alteraciones globulares son menos importantes, la hemolisis más discreta, la vida eritrocitaria está - sólo ligeramente disminuida, la anemia es poco evidente por una suficiente acción compensadora medular, que incluso conduce con alguna frecuencia a - la poliglobulia.

Como ya queda indicado, también la forma minor corresponde genéticamente a un estado heterosigótico. Sin embargo, la enfermedad muestra en esta forma signos más graves y más próximos a la forma mayor, aunque siempre menos graves, permitiendo una larga supervivencia de los enfermos. En realidad, entre la forma minor clásica, conforme fué individualizada por Riatti-Greppi-Micheli, y la talasemia mayor ó anemia de Cooley, existen claras diferencias clínicas y evolutivas. Por el contra-

rio, entre la forma minor y la mínima (microcitemia de Silvestroni y Bianco) existe una gran variedad continua y progresiva, cuya manifestación fenogénica deja todavía algunos signos oscuros.

2º.- ALFA TALASEMIA. - Al estar dificultada la síntesis de la cadena alfa, no puede formarse ninguna - de las tres hemoglobinas normales que la contienen: Hb. A ($\alpha_2\beta_2$); Hb. F ($\alpha_2\gamma_2$) y Hb. A₂ ($\alpha_2\delta_2$). - razón por la cual el proceso sintético se desvía en otro sentido, apareciendo tetrameros hemoglobínicos solo con cadenas beta (β_4 =Hb.H) ó gamma (γ_4 =Hb. Bart's). No basta pues para descartar la existencia de la talasemia la dosificación de las hemoglobinas A₂ y F sino que es preciso investigar la presencia de Hb. H y Hb. Bart's, características de - las alfa talasemias.

La existencia de hemoglobina H, fué investigada por primera vez en 1925 por Rixas y colaboradores, en una familia china, y por Gouttas y colaboradores en una familia griega. Posteriormente

se ha encontrado en numerosos grupos étnicos. Un hecho importante para la determinación de esta enfermedad, es la observación de que la hemoglobina H, incubada con azul brillante de cresilo, sufre un proceso de desnaturalización, precipitando en el interior del hematíe y dando lugar a la formación de corpúsculos de inclusión.

El cuadro clínico hematológico, es parecido al de la beta talasemia mínima. Puede existir con ferropenia que la enmascare.

Los trabajos de Lie-Inie Luang Eng y colaboradores (1962), han confirmado que la homocigosis es letal, produciendo eritroblastosis e hidrops fetal. La forma habitual sería heterocigótica y atendiendo a su mayor ó menor expresión clínica, - puede dividirse a su vez en tres subformas:

a) La de mayor intensidad transcurre con anemia hemolítica crónica, esplenomegalia, alteraciones óseas, microcitosis, hipocromía, hipersideremia, aumento de la resistencia osmótica y hallaz-

go de la hemoglobina H. A diferencia de la beta - talasemia, la esplenectomía suele ser beneficiosa.

b) Más leve es el caso de portadores relativamente sanos o sólo escasamente anémicos que ofrecen rasgos talasémicos (microcitosis, hipocromía, hipersideremia, aumento de la resistencia osmótica), sin hemoglobina H en la electroforesis, pero con la presencia de algunos hematies con corpúsculos de inclusión (Hb. H desnaturalizada y precipitada por el azul brillante de cresilo).

c) Comprende este grupo aquellos portadores sanos con rasgos de talasemia idénticos a los del grupo anterior, pero sin que se pueda demostrar en ellos la existencia de hemoglobina H, ni por electroforesis ni con azul brillante de cresilo. Sería el caso más leve de la alfa talasemia y su tara no podría catalogarse con exactitud sin realizar - estudios en familiares que presenten hemoglobina H o Bart's.

3º.- DELTA TALASEMIA. - Además de las dos formas -

principales ya citadas, habia otra caracterizada por dificultades en la sintesis de las cadenas . A consecuencia de ello, la pequena cantidad normal de Hb.A₂ ($\alpha_2\beta_2$) que oscilaba entre el 1 y el 3%, desaparecería por completo.

3a.- OTRAS HEMOGLOBINOPATIAS.

Como ya se detalla en la introducción, también se han considerado otras hemoglobinopatias cuyos aspectos clínicos son los siguientes:

Enfermedad de la hemoglobina C.- Hallada - por Itano y Neel en 1950, se ha encontrado principalmente en negros y ocasionalmente en caucasicanos. Presenta discreta anemia hemolítica, con normocromia y leve microcitosis. El dato más llamativo es una intensa dianocitosis. Entre el 40 y el 90% de los hematies presentan esta forma. En la electroforesis se halla un 100 % de Hb.C que es la de desplazamiento más lento de todas las hemoglobinas. La esplenomegalia es discreta o muy intensa, siendo poco frecuentes los dolores abdominales, ictericia y colelitiasis. El pronóstico es favorable.

Los heterosigóticos A-C sólo contienen en su sangre del 28-44% de hemoglobina C y no sufren

anemia, pero si presentan gran cantidad de dianocitos y leve hipocromia. Este rasgo se encuentra en aproximadamente el 2% de los negros americanos.

Talasemia-Hemoglobina C.- Ocurre casi exclusivamente en los negros, presentándose en general sin anemia. Cuando aparece ésta, suele ser microcítica e hipocroma, pero menos grave que en la enfermedad de Cooley. En la sangre periférica suele hallarse gran número de dianocitos y bastantes esferocitos. La hemoglobina F no aumenta y la concentración de la hemoglobina C oscila entre el 23 y el 93%.

Talasemia-hemoglobinopatía Lepore.- Se detecta en electroforésis, ya que la hemoglobina Lepore emigra un poco más rápidamente que la hemoglobina S y menos que la hemoglobina F. La clínica de los heterocigotos, es la de una leve hipocromia con microcitososis y leptocitososis, es decir, igual que la talasemia menor. En los homocigotos aparece anemia hemolítica con gran aumento de hemoglobina F y ausencia de hemoglobina A y A₂.

IV. GENETICA: VARIEDADES. SELECTIVIDAD

1º.- DEFICIT DE G6PD: GENETICA Y VARIEDADES.

En 1958 cuando Child y sus colaboradores, después Gros y otros autores, ponen en evidencia que el déficit de G6PD era transmitido como una mutación co-dominante ligada al cromosoma X. Los sujetos normales llevan pués, sobre el cromosoma sexual, un locus que asegura normalmente la síntesis de la G6PD.

Si se considera los medios de actividad enzimática observada en varones y hembras no deficientes para los hematies y otras células, se obtiene (según Sabina, 1963):

	Varones	Hembras
Hematies (1)....	1,0-2,3	2,3-2,8
Leucocitos (2)..	52-80	80-100

- (1) Actividad expresada en micromoles por minuto, por mililitro de hematies.
- (2) Actividad expresada en micromoles por minuto, para un millón de leucocitos.

Parece, pues, que existe un verdadero "efecto de dosis", las hembras no deficientes (generalmente homocigóticas para el gen productor) presentan una actividad enzimática medianamente más elevada que los varones no deficientes, siempre hemizigóticos.

Este hecho parece demostrar que en la mujer, la sección cromosómica correspondiente a la zona que lleva el locus para la síntesis de la G6PD es activa en los dos cromosomas, lo que constituye un argumento contra la hipótesis de M. Lyon (1961, 1962) según la cual uno de los dos cromosomas X es inactivado entre el 16 y el 18 día aproximadamente, de la embriogénesis. Esta inactivación se produce de una forma completamente fortuita; dicho de otra forma, en la mujer, una parte de las células tiene un cromosoma X activo que proviene del padre, mientras que otras células poseen un cromosoma X activo que proviene de la madre.

En consecuencia, en las portadoras de una enfermedad hereditaria debida al cromosoma X es de esperar que se encuentre un mosaico de células genéticamente afectadas y genéticamente normales, y si la distribución es verdaderamente un producto del azar, la correspondencia entre los dos grupos de células debe ser 1:1 .

Esta teoría ha sido batida por el estudio del factor Xg (a) de los grupos sanguíneos, también situados sobre el cromosoma X. Pero es preciso confesar que la obtención en cultivo de dos clones celulares, unos con actividad enzimática normal, otros deficientes, en la mujer heterocigótica, permanece todavía sin explicar.

El gen ha sufrido una mutación que inhibe parcialmente la síntesis del enzima: los individuos deficientes del sexo masculino (ó los deficientes homocigóticos del sexo femenino), son todavía capaces de sintetizar una pequeña cantidad de G6PD (se puede pensar que el bloqueo total del enzima sería incompatible con la vida y constituiría pues, una mutación letal.)

Los valores de actividad de G6PD observado por Sabine en varones y hembras normales y deficientes son:

	Varones	Hembras
Individuos normales....	1,6-2,3	2,3-2,8
Individuos deficientes.	0,16-0,80	1,0-1,43

Los valores se han definido siguiendo las mismas normas que en el cuadro anterior.

Se observa en el cuadro dado por Sabine, que ciertas hembras "deficientes" presentan unos niveles de enzima relativamente elevados. Este hecho se debe a que el autor ha agrupado en el mismo lote los deficientes homocigóticos y heterocigóticos: los dos genes parecen, en efecto, codominantes, lo que conduce en la mujer heterocigótica, a una disminución menos fuerte del enzima. Las variedades relativamente importantes observadas de un sujeto a otro son sin duda explicables por una variable penetración de los genes.

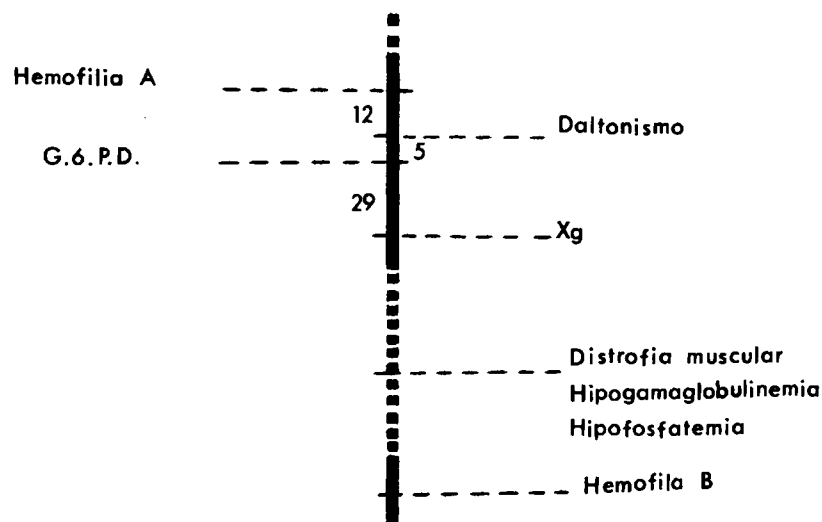
La posición del locus responsable de la síntesis de la G6PD sobre el cromosoma X es hoy día co-

nocida con bastante precisión. Se sabe gracias al nivel de recombinación calculado con relación al factor sanguíneo $X_g(a)$, que también reside sobre este mismo cromosoma, que el locus G6PD se encuentra a una distancia de 29 morganites del $X_g(a)$.

Conviene recordar que, el nivel de recombinación observado entre dos genes situados en un mismo elemento cromosómico es directamente proporcional a la distancia que separa estos dos genes; en efecto, la probabilidad para que los "crossing-over" o entrecruzamientos separen estos dos genes, es tanto más elevada cuando estos dos genes están más alejados. Esta regla, hoy día ampliamente controlada, ha recibido el nombre de ley de Sturtevant. El nivel de recombinación representa pues indirectamente un valor espacial en el cual la unidad es denominada morganite. El nivel de recombinación observado entre los loci G6PD y $X_g(a)$ es de 29 por cien, se dice, por tanto, que la distancia entre estos dos locus es de 29 morganites.

El gen para la visión de los colores (ó sus mutaciones responsables de los diferentes tipos de dal-

tonismo) está a 5 morganites del G6PD y, a 12 morganites más allá, el locus que asegura la síntesis del factor anti-hemofílico A (factor VIII de la coagulación). Es posible que la zona de ADN que lleva estos diferentes locus está situada en el extremo del cromosoma. Los otros caracteres ligados al sexo y que son bastante numerosos deben estar localizados al otro lado del locus Xg, bastante lejos de él. En particular, el gen responsable de la síntesis del factor anti-hemofílico B (factor IX) está situado, sin ninguna duda, a una gran distancia del Xg, y no cerca del locus anti-hemofílico A como se creía hasta hace poco tiempo. Se puede, desde ahora, trazar el esquema siguiente del mapa parcial del cromosoma X del hombre.



Lo que se ha dicho hasta este momento corresponde a la teoría "clásica" de la herencia de la G6PD que postula la existencia de un gen unívoco que reside en el cromosoma X y que asegura la síntesis del enzima, gen que ha sufrido una mutación codominante responsable de la ausencia de esta síntesis (ó más bien de su reducción en notable proporción).

En efecto, un estudio realizado con técnicas más precisas (electroforesis vertical en gel de almidón en sistema de tampon discontinuo de Poulik a pH 8,5) ha permitido a Porter y Boyer (1963) demostrar que existían dos tipos de G6PD:

- Un tipo con movilidad electroforética rápida denominado A.
- Un tipo con movilidad electroforética lenta, denominada B.

El tipo B parece ser el único encontrado en poblaciones europoides y mongoloides. El tipo A es propio de los negros, los cuales presentan también el tipo B. Finalmente en las mujeres negras, se pueden encontrar sujetos del tipo AB, llevando los dos

enzimas. La existencia de estos sujetos, siempre en el sexo femenino, constituye un argumento en favor de la presencia sobre el cromosoma X de dos factores A y B, que son probablemente alelos.

La deficiencia puede afectar, evidentemente a los dos tipos de G6PD. Se encuentra pues, en la práctica, 5 fenotipos, a saber:

- A+ sujeto normal provisto del enzima de tipo A
- A- sujeto enzimopénico llevando una débil cantidad de enzima de tipo A.
- B+ sujeto normal provisto de enzima de tipo B.
- B- sujeto enzimopénico portador de una pequeña cantidad del enzima de tipo B.
- A+ B+ sujetos (únicamente de sexo femenino) portadores a la vez de enzimas del tipo A y del tipo B.

Conviene señalar desde ahora que entre los sujetos enzimopénicos, los del tipo A- tienen siempre una cantidad de enzima residual más elevada que los del tipo B- que son considerados deficientes profundos.

En efecto, si se define arbitrariamente por -

el tanto por ciento la cantidad de enzima presente en el sujeto normal, se encuentra de 10 a 20 en el sujeto deficiente en G6PD A y de 0 a 2 en el deficiente en G6PD B. Esto concuerda plenamente con las observaciones clínicas según las cuales los accidentes enzimopénicos observados en los mediterráneos (y de una manera general en los blancos), son mucho más graves que los observados en los negros. Los primeros, en efecto, pierden casi todo su G6PD B, mientras que los segundos guardan, en general, una cantidad relativamente importante de G6PD A. En los negros casi no se dan las grandes crisis hemolíticas de favismo tal como se han observado en otras razas.

La misma diferencia ha sido observada en los leucocitos y en la mayor parte de las células de otros tejidos: los negros deficientes conservan en sus leucocitos y otras células tisulares (tegumentos, hígado, etc.) un nivel de enzima poco más o menos normal, - mientras que encuentran cifras que varían del 40 al 50 % en los blancos ó en asiáticos.

En los sujetos enzimopénicos de la raza blanca

el tipo B correspondería a dos mutaciones diferentes, una frenaría notablemente la producción de enzima (deficientes profundos) y que se encuentra muy difundida por la zona mediterránea, Próximo Oriente y Sudeste Asiático; la otra (deficiencia total) modifica la estructura del enzima, que llega a ser, de esta forma, totalmente ineficaz. Esta última forma muy rara y responsable de los accidentes de la más alta gravedad, estaría localizada en la Europa Continental.

Otras mutaciones, teniendo un carácter mucho más aislado han sido descritas por diferentes autores. Generalmente se las ha dado la denominación del lugar donde fueron descubiertas: tal es el caso de la G6PD "Baltimore" (en los negros americanos y papúas de Nueva Guinea), la G6PD "Ibadan" (en Nigeria), la G6PD - "Sardinia 1" y "2" en el Mediterráneo, etc.

A consecuencia de estas nuevas adquisiciones el problema del modelo genético de la G6PD ha dado lugar a numerosas discusiones que todavía no han concluído.

Una primera teoría debida a Porter y colaboradores (1962) postulaba la existencia de dos parejas de genes alelos: uno autosómico, representado por los dos factores de estructura A y B responsables de la "forma" de la molécula de G6PD; el otro ligado al sexo y que corresponde a un factor condicional que regula la cantidad de enzima sintetizada. El gen no mutado - permitiría la síntesis normal del enzima por el gen de estructura; la mutación bloquearía esta síntesis y sería responsable de la deficiencia.


Esta teoría no explica que los fenotipos AB se encuentren unicamente en las mujeres. Así, Porter y colaboradores la han abandonado para reemplazarla mas recientemente por la teoría siguiente:

Las dos parejas de alelos mencionados estarían contenidos en el cromosoma X y sin duda, estrechamente ligados. Sobre este cromosoma sexual se encontrará entonces:

- Un primer locus de estructura llevando A ó B (ó más raramente, las mutaciones del tipo Ibadan ó Bal-

timore). Este es el responsable de la forma de la molécula sintetizada.

- Un segundo locus condicional ó regulador, muy cerca del precedente, llevará un gen que controla la cantidad de enzima sintetizado. Una mutación de este último gen, frenaría anormalmente la fabricación - del enzima y sería responsable de la deficiencia: A- ó B- según que el sujeto lleve el locus de estructura A ó el locus de estructura B. Si se llaman A y B a los factores correspondientes, Op_1 al gen regulador normal y Op_2 a su mutación inhibidora, el segmento de cromosoma X responsable de la síntesis de los diferentes tipos de la G6PD podría representarse de la forma siguiente:

- 
- 1.— Locus : de estructura A ó B (ó mutacion más rara tipo Ibadan...)
 - 2.— Locus : regulador Op_1 ó Op_2 .

Los dos locus deben estar muy próximos e incluso, quizás, portados por cromosomas contiguos: no parece que se haya observado todavía crossing-over entre ellos. Kidson (1962) en el curso de una larga experiencia donde ha estudiado, en reacciones cruzadas, la aparición de actividad enzimática en hemolizados pertenecientes a los diferentes tipos de deficiencia cuando se los mezcla con estromas globulares normales ó deficientes, propuso un modelo genético todavía más preciso, en el cual el complejo genético correspondería, de hecho, a los factores siguientes:

- Un factor de estructura dirigiendo la construcción de la forma de la molécula.
- Un activador haciendo pasar una pre-G6PD inactiva (producto del gen de estructura) a una forma enzimática activa ($G6PD_1$).
- Un represor que en el sujeto normal "permite" el paso de la $G6PD_1$ a la forma reactiva $G6PD_2$.

Los diferentes tipos de deficiencia observados

corresponderían a una mutación que afectase separada ó simultáneamente a los diferentes cistrones.

Es posible que la diferencia de grado entre la deficiencia de tipo A- y la de tipo B- esté explicada por el hecho de que la mutación habría alcanzado al gen activador en un caso y al gen represor en otro.

En una palabra, los fenotipos B-, deficientes totales, estarían bajo el control de una mutación situada sobre el gen de estructura, y que, modificando la forma del apoenzima, restituiría la molécula sintetizada, desprovista de toda actividad biocatalítica.

La teoría de Kidson está inspirada en el modelo que Jacob y Monod han propuesto para explicar la genética de los enzimas bacterianos que, por otra parte, es bastante comparable a la que se ha admitido para explicar la síntesis de las hemoglobinas. Es posible que este mecanismo corresponda a un fenómeno bastante general, pudiéndose aplicar a la síntesis de todas las macromoléculas protéicas con condicionamiento hereditario.

Yoshida (1967, 1968) ha estudiado la G6PD humana. El holoenzima cristalizado tiene un peso molecular, unido al coenzima NADP, de 240.000 aproximadamente, con varias subunidades, probablemente 6, de un peso idéntico entre ellas de alrededor de 40.000. Yoshida ha mostrado que las subunidades tienen una estructura idéntica y que la única diferencia entre el tipo B y el tipo A es la sustitución de un radical asparaguina del enzima B por un radical aspártico en A. Se observa aquí, entonces, la modificación de un gen de estructura como en las hemoglobinopatías y no de un gen regulador como en las talasemias.

22.- TALASEMIA: GENETICA Y VARIEDADES.

A partir del momento en que se considera a la talasemia como una enfermedad hereditaria, y sobre todo después que se describen los primeros casos de doble heterosis para la talasemia-hemoglobina anormal, gran cantidad de investigadores han estudiado esta afección en busca de la alteración genética que la provocaba.

Mientras que en principio se consideraba que la talasemia era debida a la acción de un gen único, autores como Neel, Silvestroni, Zenker y Cennellini tratan de comprobar si este gen era ó no alelo de los genes de las hemoglobinas anormales, para ello investigan, sobre todo, en niños en los que uno de los progenitores presentaba doble heterosis para talasemia-hemoglobina anormal, y el otro progenitor era normal.

Los estudios efectuados desde 1950 aproximadamente no permitieron llegar a una conclusión clara. En efecto, en las familias descritas por Silvestroni y Bianco (1952), Singer y col. (1954), Brown y col. (1956), Howell y Raymond (1957), Akasy y Lehmann (1957), Scharf y col. (1957), Cohen y col. (1959), parecía haber una completa independencia de genes, mientras que, en los estudios de Povall y col. (1950), Neel (1953), Cannellini (1959), Ma Gurdy y Pearson (1961), Klafstad-Sillenville y col. (1962), parecía existir un "ligamiento" ó incluso una alelia entre los dos genes.

Esta variabilidad de transmisión del gen talasémico en relación con los de las hemoglobinas anormales, ha hecho suponer que la talasemia podía ser debida a la acción de más de un gen.

Esta hipótesis explicaría no solo la variabilidad de cuadros clínicos y hematológicos de dobles heterocigotos, en los cuales se puede encontrar casos con más ó menos de 50% de hemoglobina anormal, sino también la heterogeneidad bioquímica de la hemoglobina

talasémica, que puede presentarse con ó sin aumento de hemoglobina F ó de la hemoglobina A_2 , ésta última puede, incluso, estar disminuida en algunos casos.

La publicación de Ingram y Stretton en 1959 ha abierto nuevos horizontes sobre la genética de la talasemia. Basandose sobre la existencia, en la hemoglobina A de dos cadenas de diferente tipo, α y β , estos autores han afirmado que habría dos genes talasémicos, uno actuando sobre las cadenas α y otro sobre las β lo que causaría una alteración en la secuencia de aminoácidos. Los genes α^T y β^T serían los alelos de los genes α y β de las cadenas normales.

Como las cadenas α son comunes a las hemoglobinas A, A_2 y F, una disminución de su síntesis, provocada por el gen talasémico, conduciría no solamente a una disminución de la producción de hemoglobinas, sino también a un exceso de cadenas β y γ que se polimerizarían, dando lugar a las hemoglobinas H y Bart's, las cuales han aparecido siempre ligadas a los tipos de talasemia con disminución de la hemoglobina A_2 . Ingram y Stretton designan como alfa-

talasemia este tipo de afección.

Por otro lado, cuando el gen talasémico se sitúa sobre las cadenas β (beta-talasemia) se forma una cadena beta alterada, con velocidad de síntesis disminuida. Debería de haber entonces un exceso de cadenas α , pero esto no se produce nunca. En efecto, Huchins y Shooter (1962) han demostrado que éstas, al contrario que las cadenas β o γ , no son liberadas del lugar de la síntesis a menos que haya cadenas o- puestas a las cuales ellas se unan, de manera que el organismo hace concordar la liberación de las cadenas α con la producción de β o γ . Como el gen talasémico, en este caso, se localiza sobre las cadenas β se produce un aumento de las cadenas γ y δ , originando talasemias con aumento de hemoglobina F y hemoglobi- na A₂.

Gracias a esta teoría, las diferencias de cuadros clínicos y hematológicos pueden explicarse en las diversas familias descritas por los autores citados anteriormente.

Así, la existencia de dobles heterocigotos para la talasemia-hemoglobina anormal, con valores de esta hemoglobina superiores al 50%, dependiendo del gen talasémico y del de la hemoglobina anormal, se sitúa respectivamente en cadenas iguales ó diferentes.

En el caso de doble heterocigosis beta talasemia-hemoglobina S, C ó E, es decir, hemoglobinas de cadena β alterada, el estudio de la hemoglobina muestra que ésta está compuesta solamente de hemoglobina anormal y de hemoglobina F. Por el contrario, los casos de doble heterocigosis alfa talasemia-hemoglobina S tienen, además de un cuadro clínico menos completo, un valor elevado de hemoglobina A y relativamente bajo de hemoglobina anormal y de hemoglobina A_2 .

Sin embargo si el doble heterocigoto se encuentra en la alfa talasemia-hemoglobina de cadena α alterada, como lo está en la hemoglobina Q, por ejemplo, en este caso se encuentra sólo una hemoglobina Q y una hemoglobina H, esto es debido a un exceso de

cadena β , así es como se ha podido constatar en los casos de Vella (1958) y de Lie-Inia Luang Eng y col. (1962).

La teoría de Ingram y Stratton ha tenido el mérito de atraer la atención sobre la heterogeneidad genética de la talasemia dividiéndola en α y β talasemia, la hipótesis de estos autores, según la cual habría en esta enfermedad una hemoglobina anormal, no revelable por los procedimientos corrientes de laboratorio, ha sido apoyada por todos los que han profundizado en la bioquímica de esta hemoglobina.

Un defecto de la teoría de Ingram es el no poder explicar ni el síndrome llamado de persistencia de la hemoglobina F, ni los diferentes tipos de β talasemia constatados por diversos autores como Gentile y col. (1962), Malanos y col. (1962), Cutilla y col. (1962), Cordaire Ferreira (1964), etc, que son los siguientes:

- 1) Hemoglobina A_2 aumentada, hemoglobina F normal.

- 2) Hemoglobina A_2 normal, hemoglobina F aumentada.
- 3) Hemoglobina A_2 y hemoglobina F aumentada.
- 4) Hemoglobina A_2 y hemoglobina F normales.

Basandose en los trabajos de Jacob y col. (1960, 1961) sobre la genética bacteriana, Motulsky (1962) ha sugerido la existencia de una serie de genes que precederian a la formación de las diferentes cadenas de la hemoglobina y que ha dividido en genes de estructura y genes de control. Los primeros orientarian la síntesis de las proteínas, los segundos controlarían la acción de los primeros en el tiempo y el lugar de síntesis, y por tanto la cantidad de proteína formada.

Los genes de control se dividen a su vez, en genes operadores que modifican la expresión de los diversos genes ligados y funcionalmente aparentes y genes reguladores, que determinan la velocidad de síntesis de las diferentes cadenas.

Mientras que la mutación de un gen de estructura provoca solamente una alteración en la estructura primaria de la proteína que gobierna, la mutación de un gen regulador no altera la estructura de la proteína en ella misma, pero puede, sin embargo, influenciar la síntesis de otras proteínas.

En el cuadro nº 1 se puede ver la acción de los diferentes genes y el resultado de su mutación. Para Motulsky, la talasemia sería debida a la mutación de un gen regulador.

El gen operador para las cadenas β y δ está unido a los genes de estructura, sus adyacentes, de las cadenas β y δ ; parece que los genes reguladores de cadenas β y δ están también ligados al gen operador. El papel que juega este último durante la vida intrauterina, activando la síntesis de cadenas de Hb. de tipo adulto, no está todavía bien conocido, lo mismo que el mecanismo fisiológico que lo pone en acción.

Para que esta teoría genética tenga valor se debe partir del principio de que existe un gen re-

regulador para las cadenas β y otro para las cadenas δ mientras que el gen operador es común a las dos cadenas.

Es únicamente así como se puede dar una explicación en el caso de homocigosia para la persistencia de la Hb.F (Wheeler y Krevans, 1962) donde no se observa ni Hb.A ni Hb.A₂ (en efecto, no se forman ni cadenas β ni δ), mientras que, en las talasemias clásicas hay aumento de Hb.A₂ (aumento de cadenas δ), lo que no podría ocurrir aunque el gen regulador llegase a dominar las dos cadenas β y δ .

Otra prueba de esta independencia de genes puede estar dada por el caso de Fessas (1962) en el cual un individuo con una morfología eritrocitaria propia de la talasemia, no presentaba nada de Hb.A₂. Como dicho sujeto no tenía hemoglobinas anormales, que pudiesen explicar la ausencia de Hb.A₂, este caso ha sido considerado como una δ -talasemia.

La existencia simultánea de un gen capaz de mutación, regulador de cadenas δ , y de un gen idéntico

tico de cadenas β , que produce una talasemia de cadenas δ aumentadas, puede impedir el aumento de éstas. Si los genes se encuentran en "fase de acoplamiento", su asociación se manifestaría como un estigma talasémico, sin aumento de Hb.A₂ y se transmitiría como un simple defecto de β -talasemia, con valores normales de Hb.A₂.

Los genes de control deben estar estrechamente ligados a los respectivos genes de estructura; esto ha sido probado por el hecho de que en los dobles heterocigotos Hb. de cadenas β anormales-persistencia de Hb.F, no existe nada de Hb.A y que en los dobles heterocigotos talasemia-Hb. anormal, con alteración en la misma cadena, existe un aumento de la hemoglobina anormal.

Posteriormente, Maness (1963) ha propuesto nuevas bases genéticas en lo que respecta a la talasemia con el fin de poder englobar todos los casos descritos de esta afección.

Partiendo del principio formulado por Ingram

según el cual los diferentes genes normales de las cadenas hemoglobínicas derivan, por medio de duplicaciones sucesivas, de un gen inicial, y apoyándose en la hipótesis según la cual los genes β , δ y γ están estrechamente ligados entre ellos, este autor sugiere que un gran número de las anomalías hemoglobínicas, tales como las variantes de talasemia, la persistencia de la Hb.F, el síndrome de la Hb.A₂ elevada, resultan de la combinación de genes anormales, a su vez derivados de translocaciones homólogas de las diversas formas de la hemoglobina. Para Nance, se podrían distinguir dos tipos de genes talasémicos: los que han podido resultar de una desaparición del locus β y los que provienen de una fusión de genes del complejo β , δ y γ y que anulan la expresión del gen normal.

Si el nuevo gen no determina la formación de una proteína fisiológicamente activa, su presencia puede ser solamente revelada, según Nance, por su acción indirecta sobre otros genes; resulta, entonces, una perturbación en la síntesis de la hemoglobina nor-

mal, tal como se presenta en las formas de la talasemia clásica.

Si la traslocación se produce entre los genes β y δ , estamos en presencia de una talasemia con Hb.A₂ aumentada y Hb.F normal; si el fenómeno se produce entre los genes β y δ , estamos ante una talasemia con Hb.A₂ normal y Hb.F aumentada.

El síndrome de persistencia de la hemoglobina F será debido a la desaparición de un gen β y el síndrome de Hb.A₂ aumentada a la duplicación de un gen β .

En definitiva, la aparición de hemoglobina Bart's ó de Hb.H es, según ~~Nanda~~ Nanda, el resultado de duplicaciones, del gen γ en el primer caso y del gen β en el segundo, si la transmisión hereditaria de la Hb.H se hace de una manera recesiva. Por el contrario, si la herencia es dominante, esto es debido no solamente a una duplicación del gen δ con el gen γ , de donde resulta una interferencia indirecta en la producción de cadenas γ y δ .

La idea de Mance, presentando dos tipos de herencia de la Hb.H se basaba en la necesidad de explicar los casos en los cuales la Hb.H aparecía bien en los padres y sus descendientes, bien aisladamente en un solo miembro de una familia. De acuerdo con estas ideas de Mance, la Hb.H heredada de manera recesiva debe ir acompañada de un valor normal de Hb.A₂, mientras que, en el caso de la Hb.H heredada de una manera dominante, la Hb.A₂ debe estar disminuida.

Estas teorías de Mance no han podido aplicarse a las familias descritas por Bianco y Mussolini (1959), en las cuales, enfermos con Hb.H heredada de manera recesiva, ya que sus padres no la tenían, los valores hallados de Hb.A₂ estaban disminuidos. Otra objeción que se puede hacer a las teorías de Mance es el no poder explicar la existencia de casos de talasemia con aumento simultáneo de Hb.A₂ y de Hb.F.

Se deduce de todo lo dicho anteriormente, que ninguna teoría sobre la genética de la talasemia es completa, y que los progresos realizados son más apa-

rentes que reales, de ahí la conveniencia de estudiar nuevos casos de talasemia, ya que de esta manera se podrá establecer una teoría rigurosa sobre la transmisión hereditaria de esta afección.

En el cuadro nº 2 (A y B) figuran las variedades de la talasemia y su correspondencia genético-clínica. En el cuadro nº 3 se dan las combinaciones de las diversas formas de talasemia entre sí y con hemoglobinas anómalas, junto con la forma clínica y el autor.

CUADRO No. 1.- EFECTOS DE LOS DIFERENTES GENES Y RESULTADOS DE SUS MUTACIONES

CADENAS	GENES DE CONTROL					GENES DE ESTRUCTURA	
	GENES OPERADORES		GENES REGULADORES			NORMALES	MUTANTES
	NORMALES	MUTANTES	NORMALES	MUTANTES			
β	Inducen la síntesis de las cadenas β , δ al final de la vida fetal. Inhiben la formación de las cadenas γ .	Hiper F.	Regula el comienzo de la síntesis de la cadena β .	β - talasemia.	β - A	β - Hemo-globinosis: S, C, E...	
δ	—	—	Regula el comienzo de la síntesis de la cadena δ .	δ - talasemia.	δ - A ₂	δ - A' ₂	
α	Induce la síntesis de cadenas α .	?	Regula el comienzo de la síntesis de la cadena α .	α - talasemia.	α - A	α - Hemo-globinosis: D, G, Q...	
γ	Induce la síntesis de cadenas γ .	?	Regula el comienzo de la síntesis de la cadena γ .	γ - talasemia.	γ - F	γ Alexandra γ Roma γ Bristol	

CUADRO Nº 2 - A.- VARIETADES DE LA TALASEMIA Y SU CORRESPONDENCIA GENETICO-CLINICA.

TIPO	HETEROZIGOTO	HOMOZIGOTO	ALTERACION GENICA	FORMA CLINICA
α - Talasemia	Hb A ₁ predominante. Hb A ₂ normal o disminuida. Hb F normal. Hb H en adultos (inconstante) Hb Bart recién nacidos.	Ausente o escasa. Ausente. Ausente o escasa. Escasa- Abundante o escasa.	Locus α deprimido o inactivo.	Microcitemia asintomática en el heterozigoto. Hidrops fetalis o anemia de Cooley en el homozigoto.
β - Talasemia con Hb A ₂ aumentada.	Hb A ₁ predominante. Hb A ₂ aumentada Hb F normal	Ausente o escasa. Normal o aumentada. Normal.	Locus β deprimido o inactivo. Locus δ hiperactivo. Locus γ parcialmente activo en homozigosis.	Microcitemia en los heterozigotos y anemia de Cooley en los homozigotos.
β - Talasemia con Hb F y Hb A ₂ aumentadas.	Hb A ₁ predominante. Hb A ₂ aumentada Hb F aumentada	Ausente o escasa. Normal o aumentada. Muy aumentada.	Locus β deprimido o inactivo. Locus δ hiperactivo. Locus γ activo en homo y heterozigotos.	Microcitemia en heterozigotos y anemia de Cooley en homozigotos.

CUADRO No 2 - B.- VARIEDADES DE LA TALAEMIA Y SU CORRESPONDENCIA GENETICO-CLINICA

TIPO	HETEROZIGOTO	HOMOZIGOTO	ALTERACION GENICA	FORMA CLINICA
$\beta\beta$ - talasemia con Hb Lepore.	Hb A ₁ predominante. Hb A ₂ reducida. Hb F ₂ normal o au- mentada. Hb Lepore presente.	Ausente. Ausente. Muy aumentada. Como en hetero- zigos.	Locus β inactivo. Locus β inactivo. Locus γ parcialmen- te activo. Gene $\beta\beta$ escasean- te activo.	Microcitemia en h ₂ terozigotos y ane- mia de Cooley en homozigotos.
$\beta\beta$ - talasemia con Hb F au- mentada.	Hb A ₁ predominante. Hb A ₂ normal o dis- minuida. Hb F aumentada.	Ausente. Ausente. Predominante.	Locus β inactivo. Locus β inactivo. Locus γ parcial- mente activo en h ₂ no y heterozigosis	Microcitemia en h ₂ terozigotos y ane- mia de Cooley en homozigotos.
$\beta\beta$ - talasemia con Hb A ₁ y Hb F normales.	Hb A ₁ predominante. Hb A ₂ normal. Hb F ₂ normal.	Escasísima. Normal. Muy aumentada.	Locus β deprimido. Locus β deprimido. Locus γ parcial- mente activo en homozigosis.	Microcitemia en h ₂ terozigotos y a- nemia de Cooley en homozigotos.
γ - talasemia	Hb A ₁ predominante. Hb A ₂ reducida. Hb F normal.	Predominante. Ausente. Normal.	Locus β normal. Locus β inactivo. Locus γ normal.	Asintomática en h ₂ terozigotos y a- nemia de Cooley en homozigotos.
γ - talasemia hipotética.	Hb F reducida en el feto.	Ausente en el feto.	Locus γ deprimido o inactivo.	Muerte fetal.

**CUADRO Nº 3.- COMBINACIONES GENETICAS DE LAS DIVERSAS FORMAS DE TALASEMIA
ENTRE SI Y CON HEMOGLOBINAS ANOMALAS. CLINICA Y AUTOR.**

FORMULA GENETICA	FORMA CLINICA	AUTOR
β -Talasemia. Aumento aislado Hb A ₂ - Aumento aislado de Hb A ₂ en homocigosis.	Anemia microcítica constitucional grave. Anemia microcítica constitucional grave.	Silvestroni y Bianco (1957) Mazzolini, Mediano y Vallisneri Quattrin y colaboradores (1962)
β -Talasemia - Hb Lepore	Anemia microcítica constitucional grave o anemia de Cooley. Microcitemia.	Gerald y Diamond (1958)
δ -Talasemia - Talasemia	Anemia microcítica constitucional grave.	Fraser y colaboradores (1964)
α -Talasemia - Talasemia	Anemia microcítica constitucional grave. Anemia leve.	Fessas (1963), Bernini y colaboradores (1962) Fessas y Stamatoyannopoulos (1964)
β -Talasemia - Persistencia hereditaria Hb F.	Anemia leve	Fessas y Stamatoyannopoulos (1964)
α -Talasemia - Persistencia hereditaria Hb F.		Silvestroni y Bianco (1964)
β -Talasemia - Hemoglobina S	Microcitemia con crisis hemolíticas.	Zuelner y colaboradores (1956)
α -Talasemia - Hemoglobina C	Microcitemia o anemia microcítica constitucional.	Hynes y Lehmann (1956)
β -Talasemia - Hemoglobina D	Microcitemia.	Chernoff y colaboradores (1956)
β -Talasemia - Hemoglobina E	Anemia de Cooley o anemia microcítica constitucional grave.	Schwartz y colaboradores (1957)
β -Talasemia - Hemoglobina G	Microcitemia.	Atwater y colaboradores (1960)
β -Talasemia - Hemoglobina I	Microcitemia, hemolisis.	Saughvi y colaboradores (1958)
β -Talasemia - Hemoglobina J	Microcitemia.	Silvestroni y Bianco (1960)
β -Talasemia - Hemoglobina L	Microcitemia.	Vella y colaboradores (1958)
α -Talasemia - Hemoglobina Q	Anemia microcítica constitucional grave.	

3a.- HEMOGLOBINAS ANORMALES; GENETICA.

Solamente se hará una breve mención de las hemoglobinas C y Lepore halladas en este trabajo.

Las hemoglobinas anormales son debidas a una modificación de la estructura de la globina. Esta modificación puede ser de dos tipos:

- En un caso es una cadena, toda entera, la que se sustituye por otra cadena.

- En el segundo caso, que es el más frecuente, la modificación ha tenido lugar en el interior de una cadena polipeptídica y consiste, generalmente, en la sustitución de un aminoácido por otro.

La hemoglobina C está constituida por dos cadenas alfa normales y dos cadenas beta en las que, debido a una mutación, existe en vez de un ácido glu-

támico, lisina. En estado homocigótico las dos cadenas β están afectadas y por tanto sólo existe Hb.C; en estado heterocigótico sólo una de las cadenas β habría sufrido la mutación, la otra sería normal, aparece entonces además de Hb.C, Hb.A.

La hemoglobina Lepore está compuesta por dos cadenas α normales y dos cadenas no- α anormales formadas por la parte inicial de las cadenas δ y por la parte terminal de la β . Comprende, por consecuencia, dos genes que están ligados; pero esta alteración es diferente de una mutación vulgar, en la cual un aminoácido solamente, en algún punto de la cadena es reemplazado por otro.

La existencia en las cadenas no- α de la hemoglobina Lepore, da una secuencia constante de aminoácidos idéntica a las cadenas δ y a la de las cadenas β , con una longitud igual a la de otras cadenas, inclina a rechazar la hipótesis según la cual se trataría de un desorden funcional de los dos genes por defecto de formación, y lleva a afirmar con Baglioni

(1962) que se trata de un "crossing-over" entre los puntos correspondientes de los genes β y δ , de donde resulta la formación de dos genes diferentes, uno de los cuales es responsable de la formación de la hemoglobina Lepore.

SELECTIVIDAD: POLIMORFISMO COMPENSADOR.

12.- DEFICIT DE G6PD.

En la mayoría de los casos se puede considerar que la deficiencia de G6PD constituye sobre todo en las formas B una mutación desfavorable. La persistencia de este carácter con una frecuencia relativamente elevada en ciertas poblaciones (en particular en la zona mediterránea) plantea la existencia de un proceso de "polimorfismo compensador" que al igual que en las hemoglobinopatías y en las talasemias, mantendría la tasa de la anomalía en un nivel constante.

Allison y Notulsky, sorprendidos de la concordancia que parece existir entre las poblaciones con alta frecuencia de enzimopenia y las zonas fuertemente afectadas por *plasmodium falciparum* emitieron una hipótesis según la cual el parásito se desa-

rrollaria mal en el hematie deficiente lo que aseguraria, en las hembras heterozigóticas en particular, una cierta ventaja selectiva.

Esta hipótesis ha sido aceptada por Adinolfi, Siniscalco y otros autores. Allison incluso demostró que la vida de los hematozoarios en los hematies deficientes es siempre más corta que en los hematies normales, pero los resultados de sus experiencias fueron puestos en duda.

Porter y otros han señalado la existencia de formas palúdicas graves en sujetos enzimopénicos y en Argelia existe una tasa relativamente moderada (2%) en zonas que eran fuertemente impalúdicas, y una tasa más elevada (3,35%) se da en zonas donde el paludismo ha estado, sin duda, menos extendido. Es necesario reconocer en estos casos la importancia de la endogamia, ya que muchas poblaciones constituyen después de varios siglos, verdaderos aislados biológicos.

En el Libano por el contrario, Taleb ha señalado que entre los grupos étnicos numericamente im-

portantes, solamente los Druzes, que habitan la montaña, no presentan deficiencia. En la península arábiga, la tasa de deficiencia enzimática y la intensidad de la endemia palúdica parecen ser rigurosamente paralelas.

No es posible conocer todavía, con certeza, el papel exacto que juega el paludismo en la persistencia de la enzimopenia. Si bien es aceptable que la persistencia de la mutación con una tara elevada en ciertas zonas está bajo el control de un fenómeno de polimorfismo compensador, otros factores distintos de la infección plasmodial han podido intervenir, tales como las condiciones alimentarias.

Se puede pensar, en efecto, que al margen de toda agresión tóxica (medicamentosa o nutricional) la mutación enzimopénica constituye un carácter indiferente en el plano de la selección. Punto aparte pueden ser las formas B de deficiencia total, debida a la mutación de un gen de estructura, raro, encontrado solamente en Europa continental y que manten-

dría una anemia hemolítica clínica permanente. Su rareza puede ser explicada incluso por un proceso de selección natural.

En otros casos fuera de toda agresión tóxica o alimentaria, la deficiencia aparece como un factor racial que podría alcanzar un frecuencia elevada en poblaciones que viviesen en condiciones de endogamia más o menos estricta.

22.- TALASEMIA.

En lo que respecta a la talasemia se ha comprobado que los homocigóticos talasémicos mueren antes de alcanzar la edad fértil; por otra parte, en los heterocigotos que padecen formas intermedias graves, los varones muestran deficiencia en el desarrollo sexual y en las hembras es frecuente la muerte de la madre o el aborto.

De todo esto se deduce, en vista de la pérdida continuada de genes, que la talasemia debía tender a su desaparición espontánea, hasta quedar convertida en una rareza cuya frecuencia sobrepasaría muy poco a la frecuencia de la mutación que le dió origen. Pero, por el contrario, la frecuencia real de la talasemia alcanza en ciertas comarcas griegas y del Sudeste asiático un valor tan elevado que obliga a admitir la existencia de un polimorfismo compen-

sador, este es, alguna ventaja en el heteronigote mediante la cual pudiese contrarrestar su evidente letalidad en homocigosis.

Fue Haldane (1949) el primero en sugerir la posibilidad de que la talasemia representara una protección contra el paludismo. Posteriormente se han encontrado muchos trabajos encaminados a confirmar esta hipótesis (Siniscalco 1963, Chernia y colaboradores 1963, etc.) unos con resultados positivos y otros francamente dudosos.

Efectivamente la distribución de la talasemia en el mundo guarda cierto paralelismo con la endemia malárica, lo cual no quiere decir que no se haya encontrado talasemia en lugares donde no ha existido la endemia palúdica ó que en comarcas afectadas por las diversas especies de plasmodium no se hayan descrito casos de talasemia.

Haldane sugiere que a su vez la talasemia debía proteger a sus portadores contra graves pérdidas de hierro, debido a la facilidad que tienen

para absorberlo y almacenarlo. Lehmann señala la ventaja que puede representar la persistencia de la hemoglobina F en la inmunidad a la malaria y Fessas y colaboradores (1963) la selección que podía efectuar el bajo nivel de colesteroína y lipoproteínas en el suero de los talasémicos.

Aunque todas estas hipótesis son perfectamente aceptables nada es definitivo, ya que en algunos casos no se ha encontrado una confirmación convincente. Por otra parte el fenómeno del polimorfismo es mucho más complejo y en este caso no hay que olvidar el papel que juegan las emigraciones a otros lugares que presentan condiciones ecológicas muy diferentes. O bien la eficaz y prolongada lucha antipalúdica que ha hecho disminuir e incluso desaparecer la endemia malárica.

3ª HEMOGLOBINAS ANORMALES.

En las hemoglobinas anormales C y Lepore se ha observado que la condición homocigótica no ocasiona una enfermedad letal como ocurre, por ejemplo, con la microcitemia y la hemoglobina S.

No se poseen, por otra parte, datos experimentales que permitan atribuir a estas anomalías un valor protector hacia la malaria, análogo al que se ha observado para la hemoglobina S.

Tampoco se ha encontrado, hasta el momento, ninguna ventaja selectiva en los portadores de estas hemoglobinas anormales, lo cual hace pensar que su existencia se debería probablemente a un factor racial.

V. MATERIALES Y METODOS

1.- DETERMINACION DEL DEFICIT DE G6PD

Entre las diversas técnicas que hoy día se conocen para diagnosticar el déficit de G6PD en los hematíes, se han utilizado los siguientes métodos: Método de Beutler, Test de Motulsky y el método de Brewen, Tarlow y Alving.

METODO DE BEUTLER.- Este método está basado en que la acetilfenilhidrasina, añadida a las células ensima deficitarias determina una producción más elevada de corpúsculos de Heinz que en los glóbulos rojos normales.

La prueba de los corpúsculos de Heinz para el reconocimiento de los glóbulos rojos ensima deficitarios consiste, en esencia, en añadir acetilfenilhidrasina a la muestra problema y a una muestra tomada como testigo; mantener ambas muestras a 37°C du-

rante 4 horas, teñirlos con solución de cristal violeta y ya teñidos comprobar la presencia de corpúsculos de Heins.

Reactivos utilizados.-

12.- Solución tampón: 13 partes de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ al 0,0066M y 87 de PO_4HNa_2 al 0,066M; el ph de la solución es de 7,6. Se añaden 0,2 gr de glucosa por 100 cc. Esta solución se conserva bien pero debe desecharse si aparecen hongos.

22.- Solución de acetilfenilhidrasina. Se disuelven 100 mg de acetilfenilhidrasina en 100 cc de solución tampón y a la temperatura ambiente. Esta solución debe hacerse nueva cada día que tenga que hacerse la prueba y debe ser utilizada dentro de la primera hora después de su preparación; al ser utilizada en un tiempo posterior a una hora de su preparación se comprobó que no se observaban corpúsculos de Heins, lo cual nos confirma que pasado ese tiempo, el reactivo pierde actividad.

38.- Cristal violeta. Se disuelven 2 gr de cristal violeta en 100 cc de una solución acuosa de ClNa al 0,73 %. Se agita durante 5 minutos se filtra la solución y se añaden otros 100 cc de ClNa al 0,73%. Esta solución se mantiene bien a la temperatura ambiente.

42.- La sangre puede ser desfibrinada, heparinizada, oxalada o con EDTA.

Procedimiento seguido.- Se pone en un tubo 0,1 cc de la sangre problema con 2 cc de la solución de acetilfenilhidrazina. La misma proporción de sangre normal añadida a la solución de acetilfenilhidrazina sirve para comparar.

Se airea la suspensión de sangre aspirando varias veces con la pipeta. Se pone en la estufa a 37°C, y a las dos horas, se saca, para airearlo de nuevo; a continuación se vuelve a incubar durante otras dos horas. Pasado ese tiempo, se tñe la mezcla mezclando en un porta una gota de la solución con 2 o 3 gotas de la solución de cristal violeta, una vez mezclados se cubren con un porta.

Realizadas estas operaciones ya estamos en condiciones de identificar los corpúsculos de Heinz. Para el recuento debe elegirse un área de la preparación en la que aparezcan los corpúsculos de Heinz bien teñidos y los hematíes no estén crenados.

Boutlier recomienda contar sólo aquellos hematíes que contienen 5 o más corpúsculos de Heinz. Observó que en 86 sujetos normales el tanto por ciento de células que contenían 5 o más corpúsculos de Heinz variaba entre cero y 28%, con dos casos de 46 y 62%; la media fue de 11,9%. En contraste con estos datos, encontró que en 18 sujetos ensima deficitarios los porcentajes oscilaban entre 45 y 92%. De acuerdo con esto indica que podría tomarse 32,5% como línea divisoria entre glóbulos rojos normales y glóbulos rojos ensima deficitarios.

METODO DE MOTULSKY Y COLABORADORES.- Se realiza el reconocimiento del déficit de G6PD en los hematíes usando azul brillante de cresilo. En líneas generales, consiste en incubar hemolizados en presencia

de un exceso de Glucosa 6 fosfato como sustrato, y trifosfopiridín nucleótido (TPN) como coenzima, junto con el colorante azul brillante de cresilo. La dehidrogenación de la glucosa 6 fosfato como resultado de la presencia de glucosa 6 fosfato en la mezcla de reacción determina la reducción del TPN a TPNH. El colorante añadido se reduce a un compuesto incoloro en proporción a la cantidad de TPNH formada. La ausencia o déficit del enzima da un tiempo significativamente prolongado en la decoloración del colorante.

Reactivos utilizados.-

12.- Solución tampón colorante. En 400 cc de agua destilada se disuelven 44,75 gr de TRIS (2 amino-2 hidroxí-metilpropano-1,3 diol) y 160 mg de azul brillante de cresilo. El ph se ajusta a 8,5 con ClH concentrado y la solución se completa hasta 500 cc.

20.- Solución de Trifosfopiridín nucleótido (TPN). Se disuelven 50 mg en 100 cc de agua destilada.

30.- Solución de Glucosa 6 fosfato. Se disuelven 760 mg

de sal sódica o la cantidad equivalente de sal potásica en 100 cc de agua destilada.

Estas tres soluciones se conservan indefinidamente a -20°C.

4º.- La solución combinada de los tres reactivos debe prepararse fresca cada día. Para ello se mezclan 45 cc de solución tampón colorante, 10 cc de solución TPN y 10 cc de solución de Glucosa 6 fosfato.

Método a seguir.- A 1 cc de agua se añaden 0,02 de sangre recientemente extraída o de pocas horas. La elección del anticoagulante no influye para nada en la determinación del enzima. La suspensión se mezcla bien y el hemolizado obtenido puede guardarse a 0°C durante 6 horas sin que el enzima, por ello, pierda actividad. Luego se añaden al hemolizado 0,65 cc de solución combinada de reactivos y se mezcla bien; seguidamente se cubre la mezcla con parafina líquida cuya finalidad es aislar por completo para evitar todo riesgo, por mínimo que éste sea, de oxidación y se incuba a 37°C sin agitar, anotando el tiempo de la decoloración del colorante.

Los resultados están referidos al tiempo de decoloración.

- Sujetos normales: de 40 a 90 minutos.
- Varones deficitarios del enzima (hemizigotos): 140 minutos a 29 horas.
- Hembras deficitarias del enzima (heterosigotos): algunos tienen valores superponibles, en parte, con los de los varones normales; otros se decoloran entre 90 minutos y varias horas.

METODO DE BREWER, TARLOW Y ALVING.- Se basa este método en el reconocimiento de la deficiencia del enzima G6PD utilizando para ello azul de metileno, sustancia capaz de acelerar la reducción de la metahemoglobina por activación del ciclo hexosa monofosfato en los hematies normales; este efecto está disminuido en células con deficiencia en G6PD.

Si a una suspensión de eritrocitos que contenga metahemoglobina, por el agregado de nitritos, le añadimos azul de metileno y glucosa, vemos que la reducción

de la metahemoglobina se acelera en eritrocitos normales, no observándose este fenómeno en hematies con deficiencia en G6PD.

La deficiencia enzimática lleva consigo la estabilización de la metahemoglobina, y podemos observar por simple comparación la diferencia que existe entre el color rojo vivo que tiene la hemoglobina normal y el pardo amarillento que corresponde a la metahemoglobina.

Este método permite una buena diferenciación tanto en los casos extremos de sujetos normales y de sujetos hemizigóticos (varones) totalmente deficientes como en el caso de valores intermedios que se observan en las hembras heterozigóticas.

Reactivos utilizados.-

12.- Solución de NO_2Na 0,18M y Glucosa (Q.P) 0,28M. Pesamos 5 gr de glucosa (Q.P) y 1,25 gr de NO_2Na y lo disolvemos en agua destilada hasta 100 ml.

22.- Solución de azul de metileno 0,0004M. Disolvemos 0,15 de azul de metileno, cloruro trihidratado en

1000 ml. de agua destilada.

Como anticoagulante podemos utilizar heparina sódica ó ACD.

Los reactivos pueden mantenerse durante 6 meses a la temperatura ambiente sin que por ello sufran deterioro. La prueba puede ser realizada inmediatamente a la extracción ó una hora después, la prueba es válida también para sangre conservada durante una semana en ACD, siempre que haya sido refrigerada. Se obtienen falsos resultados con sangre parcialmente coagulada ó hemolizada. No sirven como anticoagulantes el oxalato y fluoruro.

Procedimiento.- Se pone:

- a) Tubo de referencia positivo: se añade 0,1 ml. de solución de glucosa nitrito solamente, no se añade azul de metileno.
- b) Tubo de referencia normal: no se añade ningún reactivo a este tubo.
- c) Tubo de muestra problema: se miden exactamente 0,1 ml. de solución de glucosa nitrito y 0,1 ml. de

azul de metileno.

En cada uno de estos tubos se coloca previamente 0,1 ml. de sangre.

Una vez puestos los reactivos en los diferentes tubos, se mezclan bien invirtiendo cada tubo 15 veces suavemente, no sacudiendo. Se incuba 3 horas a 37°C, al cabo de ese tiempo se sacan, se mezclan invirtiendolos y se pone 0,1 ml. de cada tubo en tubos de ensayo en los que previamente se había colocado 10 ml. de agua destilada, mezclandose bien.

Interpretación de los resultados.- El color se compara visualmente entre los 2 y los 10 minutos después de la dilución.

Actividad normal: rojo claro idéntico al tubo de referencia normal.

Deficiente en G6PD: gris oscuro a marrón como el tubo de referencia positivo.

Déficit intermedio: heterosis femenina de rojo a marrón.

Después de realizar pruebas con los tres métodos ya citados (Reutler, Motulsky y Brewer, Tarlex y Alving) se adoptó el de Brewer, Tarlex y Alving que tiene la ventaja, además de que resulta económico tanto en material como en tiempo, de que no está sujeto a las amplias variaciones debidas a la temperatura, tiempo de incubación, edad de la solución, composición y concentración de la misma, etc, inconvenientes con que se tropesaba al utilizar los otros métodos, y que debían ser rigurosamente normalizados para llegar a resultados válidos.

22.- DIAGNOSTICO DE LA TALASEMIA

Se hizo en primer lugar una selección consistente en probar la resistencia osmótica de los hematies con una solución de ClNa al 3,5 por 1000, recomendada por Yalla y también por Pasig.

Esta prueba ha sido criticada por varios autores, entre ellos Aranda (1962) debido a que da resultados positivos en anemias hipocrónicas de variada naturaleza y hemoglobinopatías no relacionadas con la talasemia. Hay que reconocer que este hecho es completamente cierto, y se debe a que cualquier causa que produzca aplanamiento de los hematies, leptocitos, entre los cuales se incluyen, además de las anemias, ciertas diarreas y afecciones hepáticas, producen el efecto de aumentar la capacidad de las células (glóbulos rojos en este caso) para hincharse sin que su membrana llegue a estallar.

Para compensar los errores a que nos llevaría el uso exclusivo de la valoración de la resistencia osmótica, se ha practicado un examen microscópico de la morfología de los hematíes en extensiones teñidas por el método de Giemsa. El objeto de este examen microscópico es confirmar la presencia de alteraciones típicas de la talasemia: células en diámana (dianocitos), microcitos, poiquilocitos, eliptocitos, punteado basófilo, etc. Pero al igual que en el método anterior, tropezamos con el inconveniente de que las anomalías morfológicas de los hematíes en la talasemia son inespecíficas y aunque en conjunto producen un cuadro muy característico, pueden ser fácilmente simuladas por una gran variedad de anemias y hemoglobinopatías, tal es el caso, por ejemplo de la hemoglobina C en que es característico la gran cantidad de células en diámana que produce.

No obstante, el utilizar estos procedimientos, bien combinados, bien por separado, constituye un mecanismo insustituible para la detección de casos sospechosos y tiene además la ventaja de

proporcionar un elevado grado de seguridad en el diagnóstico si las muestras seleccionadas son sometidas a continuación a métodos electroforéticos.

La ventaja que ofrece el uso de las técnicas electroforéticas se cifra, no solo en que permite un diagnóstico certero de la existencia de talasemia, sino que además permite también la clasificación de dicha talasemia dentro de los criterios establecidos, por otra parte, se puede valorar cuantitativamente la cantidad de hemoglobina A_2 . El aumento de hemoglobina A_2 es la característica más frecuente de la talasemia en griegos e israelitas, pero el tomar este dato como único dejaría ocultos varios casos interesantes desde el punto de vista genético, como son las formas alfa y delta. Es posible, incluso, diagnosticar mediante electroforesis gran cantidad de hemoglobinopatías, que durante mucho tiempo fueron consideradas como talasemia.

En este trabajo las electroforesis se han realizado sobre tiras de acetato de celulosa gelatinado, y como tampones se han utilizado:

- 1.- Tampón de Glicina, ph 8,6. M 0,05.
(35,15 gr de glicina, 38,4 ml de NaOH Normal y se completa con agua hasta 1 l.
- 2.- Tampón de veronal, ph 8,6 (veronal sódico 10,30 gr; veronal ácido 1,34 gr; por litro).
- 3.- Tampón Tris ph 8,9 (Tris-(hidroximetil)-amino-metano 50,4 gr; ethylenediamine-tetracetic acid 5,0 gr; ácido bórico 3,8 gr; disuelto en un litro de agua).
- 4.- Tampón de fosfato ph 6,3 M 0,075.
($\text{PO}_4\text{NaH}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 7,38 gr; $\text{PO}_4\text{HNa}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,85 gr; en un litro de agua).

La solución colorante está compuesta de 5 gr de negro anilo, 45 ml de metanol, 45 ml de agua y 10 ml de ácido acético.

Solución decolorante: 475 ml de metanol, 475 ml de agua y 50 ml de ácido acético.

Solución transparentadora: 85 ml de metanol,

14 ml de ácido acético y 1 ml de glycerol.

Para la obtención de hemoglobina se centrifugan 1 o 2 cc de sangre, tratada con anticoagulante. El plasma sobrenadante se tira, los glóbulos rojos que quedan se lavan 4 o 5 veces con una solución de ClNa al 0,9%, centrifugando cada vez con el fin de separar el líquido de lavado. Se adiciona un volumen igual de agua destilada, se agita para hemolizar. Se añade 1/2 volumen de tolueno (también sirve el cloroforme), se agita 5 o 10 minutos para eliminar lípidos y se centrifuga 20 minutos a 3.000 r.p.m. Se elimina por aspiración la capa no interesante (en el caso de utilizar tolueno, el líquido sobrenadante). Esta solución de hemoglobina puede guardarse congelada durante 2 o 3 meses.

Proceso seguido en la separación electroforética.-

1º.- Se sumergen las tiras de acetato de celulosa en el tampón durante 5 o 10 minutos.

2º.- Se elimina el exceso de tampón, secando las tiras entre papeles de filtro.

- 32.-** Se colocan las tiras en el puente, aplicando en una de las tiras una gota de hemolinado de adulto normal, en las restantes tiras se colocan en cada una un hemolinado problema. La aplicación de los hemolinados se hace en la parte del cátodo (-) y se ha de procurar que queden todas a la misma altura (con objeto de comparar la diferencia de movilidad).
- 42.-** Se aplica un voltaje adecuado (dependiendo, naturalmente del número de tiras que se monten) con objeto de obtener 4 mA por tira.
- 52.-** Después de dos horas se sacan las tiras de la cubeta de la electroforesis y se colocan en la solución colorante durante 5 o 10 minutos.
- 62.-** Se decoloran y posteriormente se sumergen en una solución transparentadora durante dos o cuatro minutos; pasados éstos se sacan y se colocan en una placa de vidrio, cuidando que no haya burbujas, y se calienta hasta transparencia completa.

Realizadas todas estas operaciones se colocan las tiras de un Fotodensitómetro, con objeto de realizar la lectura de las fracciones obtenidas, registrar la curva de extinción, integración de los valores y obtención de cada uno de los porcentajes de las fracciones obtenidas.

La hemoglobina F se valoró por el método de la desnaturalización alcalina en un minuto (método de Singer y colaboradores 1951).

También se realizaron pruebas para comprobar la existencia de hemoglobina H, por incubación de los hematies con azul brillante de cresilo (Gouttas y colaboradores 1955).

30.- RECONOCIMIENTO DE HEMOGLOBINAS ANORMALES.

Seguendo los métodos de diagnóstico de la talasemia fueron identificadas 3 hemoglobinas anormales, dos de ellas correspondían a un heterosigosis de hemoglobinas A-C y la tercera era una hemoglobina Lepore.

Puesto que este trabajo no estaba orientado a la determinación de hemoglobinas anormales no se ha realizado un estudio exhaustivo sobre ellas. Su diagnóstico está basado en las características morfológicas de sus hematies y en la diferente movilidad electroforética que presentan estas hemoglobinas. Además se han realizado electroforesis utilizando hemoglobinas A-C y A-S patrones, con objeto de comparar su movilidad electroforética.

VI. MUESTRA Y RESULTADOS

El trabajo para determinar la frecuencia de deficiencia en G6PD y de talasemia, ha sido realizado en varias provincias españolas: Cáceres, Badajoz, Guadalajara, Ciudad Real, Cuenca y Albacete. En todas estas poblaciones la muestra está integrada por individuos de ambos sexos, pertenecientes casi en su totalidad al Seguro de Enfermedad, a la Beneficencia o al Instituto de Higiene.

El total de individuos examinados ha sido de 4.240 y su distribución por provincias es la siguiente:

<u>Cáceres:</u>	Total de individuos examinados: 845
	Número de individuos varones: 288
	Número de individuos mujeres: 557
<u>Badajoz:</u>	Total de individuos examinados: 905
	Número de individuos varones: 330
	Número de individuos mujeres: 575

Guadalajara: Total de individuos examinados: 700
Número de individuos varones: 222
Número de individuos mujeres: 478

Ciudad Real: Total de individuos examinados: 600
Número de individuos varones: 200
Número de individuos mujeres: 400

Cuenca: Total de individuos examinados: 440
Número de individuos varones: 290
Número de individuos mujeres: 150

Albacete: Total de individuos examinados: 750
Número de individuos varones: 320
Número de individuos mujeres: 430

12. DEFICIT DE G6PD: RESULTADOS

Los resultados obtenidos en cuanto a la frecuencia de deficiencia en G6PD en las diferentes provincias examinadas están expresados en la tabla nº 1.

Como puede verse, la frecuencia de individuos deficientes obtenida en las diferentes provincias examinadas ha sido muy baja (e incluso en algunas cero), no es posible el análisis de la probable heterogeneidad entre dichas provincias mediante el cálculo de la χ^2 . Debe procederse a agrupar provincias.

En la tabla nº 2 figura la tabla de contingencia que resulta de agrupar por un lado las provincias extremeñas (Cáceres y Badajoz) y por entre las de la Meseta (Guadalajara, Ciudad Real, Cuenca y Albacete). Se comprueba que en las primeras

la frecuencia de individuos deficientes en G6PD es mayor que en las segundas, lo cual apoyaría la hipótesis de que la deficiencia de G6PD confiere una ventaja selectiva a sus portadores frente al paludismo, ya que han sido Cáceres y Badajoz las provincias en que el paludismo ha sido más intenso, mientras que por el contrario, en las restantes provincias, alcanzó un grado medio o no existió.

El cálculo de la correspondiente χ^2 indica que esta diferencia es significativa ($\chi^2 = 5,705430$, para un grado de libertad, $0,2 > P > 0,1$).

Con todo, esta significación debe admitirse con reservas puesto que, de acuerdo con Cochran, solo es lícito el cálculo de la χ^2 cuando las frecuencias teóricas menores de 5 no superen el 20% del total y en este caso alcanzan el 30%.

Tampoco resuelve la incertidumbre el empleo del método más exacto ideado por Fisher para el tratamiento de las tablas 2 x 2, ya que la aplicación de su fórmula:

$$\frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)!}{n!} \cdot \frac{1}{a!b!c!d!}$$

nos dá una probabilidad de $\frac{1,9817}{32,8740}$ que como se

ve queda algo por encima del nivel del 5%. En la tabla nº 3 figura la tabla que corresponde al tratamiento exacto de las tablas 2x2 ideado por Fisher.

TABLA Nº 1

FRECUENCIA DE DEFICIENCIA EN G6PD EN LAS PROVINCIAS ESPAÑOLAS EXAMINADAS

PROVINCIAS	INDIVIDUOS EXAMINADOS		INDIVIDUOS DEFICIENTES		VARONES %	MORTALIDAD MALARIA POR 100.000 HABITANTES EN 1919
	V	M	V	M		
CACERES	288	557	3	3	1,04	158
BADAJOS	330	575	2	3	0,606	107
GUADALAJARA	222	478	0	3	0,00	de 4,5 - 13
CIUDAD REAL	200	400	1	1	0,50	de 30,5 - 50
CUENCA	290	150	0	1	0,00	de 4,5 - 13
ALBACETE	320	430	1	3	0,31	de 13,5 - 21
TOTAL	1.650	2.590	7	14	0,42	

TABLA Nº 2

**TABLA DE CONTINGENCIA PARA LA DISTRIBUCION DE LA FRECUENCIA DE DEFICIENCIA
EN GGPD EN LAS REGIONES: EXTREMEÑA Y EN LA MESETA.**

REGION	INDIVIDUOS NORMALES		INDIVIDUOS DEFICIENTES		TOTAL
	FREC. EMPIRICA	FREC. TEORICA	FREC. EMPIRICA	FREC. TEORICA	
EXTREMEÑA	613	(616.19)	5	(1.87)	618
MESETA	1.030	(1030.75)	2	(1.25)	1.032
TOTAL	1.643		7		1.650

$\chi^2 = 5.705430$
para un grado de libertad
 $0.2 > P > 0.1.$

TABLA Nº 1

**TRATAMIENTO EXACTO DE LAS TABLAS 2X2 DE FISHER PARA
LA DISTRIBUCION DE LA FRECUENCIA DE DEFICIENCIA EN
G6PD EN EXTREMADURA Y EN LA MESETA.**

REGION	INDIVIDUOS NORMALES	INDIVIDUOS DEFICIENTES	TOTAL
EXTREMEÑA	613	5	618
MESETA	1.030	2	1.032
	1.643	7	1.650

2º TALASEMIA: RESULTADOS

En las 4.240 muestras examinadas se encontraron 73 con resistencia osmótica aumentada y con alguna ó todas las características morfológicas de la talasemia y el resultado de la electroforesis, prueba de Singer y la tinción con azul brillante de cresilo permitió confirmar el diagnóstico y clasificarlas.

También se encontraron 20 muestras que presentaban la resistencia osmótica aumentada, pero que el examen morfológico y demás pruebas especificadas permitieron desechar y clasificar como anemias hipocrómicas.

En otros tres casos que presentaron resistencia osmótica aumentada y anomalías morfológicas en los hematíes, el análisis electroforético reveló la presencia de una hemoglobina diferente de la

normal del adulto. En dos de estos tres casos se trataba de una hemoglobina en heterocigosis A-C y en el tercero de una hemoglobina Lepore.

Los resultados obtenidos en cuanto a la frecuencia de talasemia en las diferentes provincias examinadas figuran en la tabla nº 4.

Se observa que la frecuencia de talasemia obtenida en las diferentes provincias examinadas es muy homogénea. En la tabla nº 5 figura la tabla de contingencia para la distribución de la frecuencia de talasemia en esas provincias.

El cálculo de la correspondiente χ^2 indica que esta diferencia no es significativa ($\chi^2 = 5,8370$, para 5 grados de libertad, $50 > P > 30$).

Aumento de hemoglobina A₂.-

Un aumento de la hemoglobina A₂, sin que la hemoglobina F sobrepasara la cifra de 2,5%, se presentó en 43 de los 73 casos positivos correspondientes a heterocigosis de la forma clásica de la beta-talasemia.

Los valores de hemoglobina A_2 de estos casos oscilan de 3,68% a 9,70%. La media es de 4,8086% $\pm 0,1764$, con una desviación típica de 1,1369. La serie completa está representada en el histograma A y los valores correspondientes a esa distribución figuran en el cuadro nº 4.

En el histograma A se ha representado la distribución de la hemoglobina A_2 en los individuos talasémicos que presentan aumento aislado de esta hemoglobina. Se trata de una distribución con un número muy pequeño de individuos, no es posible, por consiguiente, realizar un estudio estadístico acerca de las características de esta distribución (asimetría, curtosis, etc.) con todo provisionalmente puede señalarse en esta distribución una cierta tendencia a la asimetría positiva.

Aumento de hemoglobina A_2 unido a un aumento de hemoglobina F.-

Esta modalidad fue encontrada en 30 casos, que supone un 41,09% del total de los casos y los va-

lotes de hemoglobina A_2 obtenidos oscilan de 3,63% a 7,30%. La media es de 4,6293% $\pm 0,1966$ y la desviación típica de 0,8377.

Para la hemoglobina F la oscilación estuvo comprendida entre 2,8% y 9,86%, con una media de 4,6870% $\pm 0,2997$ y una desviación típica 1,6417.

Las series completas de estos valores figuran en los cuadros nº 5 y nº 6 y se representan en los histogramas B y C.

Con las mismas salvedades indicadas anteriormente, se sigue observando una cierta tendencia a una asimetría positiva en el histograma B, que corresponde a la distribución de la hemoglobina A_2 en los casos que presentan aumento simultáneo de las hemoglobinas A_2 y F. Mucho más irregular es todavía la distribución obtenida en el histograma C en el que se representa la distribución de la hemoglobina F en los casos que presentan simultáneamente aumento de hemoglobinas A_2 y F.

Aumento de hemoglobina F.-

No ha sido encontrado en este trabajo ningún individuo que presentase aumento de hemoglobina F sin variación de la hemoglobina A_2 por encima de su valor normal.

Valoración de la hemoglobina A_2 .-

Se ha realizado una valoración de la hemoglobina A_2 en 150 individuos normales con objeto de comparar su distribución con la observada en individuos afectados de talasemia.

La hemoglobina A_2 constituye aproximadamente 1/40 de la hemoglobina total del adulto. En la sangre de cordón hay menos del 1 por 100 y va aumentando con la edad. Investigando a intervalos de un mes, se ha determinado (Erdem S. y Aksoy M. 1969) que el contenido medio entre el primero y el sexto mes de la vida es el siguiente: 0,8; 1,3; 1,6; 2,2; 2,3; 2,7; todos estos valores referidos a 100. Así pues, entre el cuarto y el quinto mes se alcanzan valores simila-

res a los del adulto, lo que está de acuerdo con las investigaciones de otros autores y no con las de Wentherall y colaboradores quienes creen que el nivel del adulto se alcanza entre los seis y los doce meses.

Los valores de hemoglobina A_2 obtenidos en este trabajo oscilan de 0,35% a 2,98%. La media es de 1,6403% $\pm 0,0451$ y la desviación típica de 0,3523. La serie completa esta representada en el histograma D.

Como puede verse, en los casos de talasemia la proporción de hemoglobina A_2 queda notablemente aumentada. La comparación de los promedios permite comprobar que este incremento es estadísticamente significativo, así al comparar la distribución de la hemoglobina A_2 observada en individuos normales, con la de los individuos talasémicos que presentan solo aumento de esta hemoglobina, la T de Student calculada otorga una probabilidad claramente inferior al 0,001 (T = 17,42, para 191 grados de libertad).

Igual significación se obtiene al comparar

la distribución de la hemoglobina A_2 en individuos normales con la observada en individuos talasémicos que presentan aumento simultáneo de hemoglobinas A_2 y F. La T de Student calculada otorga una probabilidad claramente inferior al 0,001 ($T = 18,36$ para 178 grados de libertad).

TABLA No 4

FRECUENCIA DE TALASEMIA EN LAS PROVINCIAS ESPAÑOLAS EXAMINADAS.

PROVINCIAS	Nº INDIVIDUOS EXAMINADOS	TALASEMIA HEMOGLOBINAS AUMENTADAS				TOTAL	%
		A ₂	A ₂ + F	F	H		
CACERES	845	4	9	0	0	13	1,53
BADAJOS	905	18	2	0	0	20	2,20
GUADALAJARA	700	8	5	0	0	13	1,85
CIUDAD REAL	600	5	6	0	0	11	1,83
CUENCA	440	2	0	0	0	2	0,45
ALBACETE	730	6	8	0	0	14	1,86
TOTAL	4.240	43	30	0	0	73	1,72

TABLA Nº 5

**TABLA DE CONTINGENCIA PARA LA DISTRIBUCION DE LA
TALASEMIA EN LAS PROVINCIAS EXAMINADAS.**

PROVINCIAS	INDIVIDUOS NORMALES		INDIVIDUOS TALASEMICOS		TOTALES
	FREC.EMPIRICA	FREC.TEORICA	FREC.EMPIRICA	FREC.TEORICA	
CACERES	832	(830,45)	13	(14,55)	845
BADAJOS	885	(889,42)	20	(15,58)	905
GUADALAJARA	687	(687,95)	13	(12,05)	700
CIUDAD REAL	589	(589,67)	11	(10,33)	600
CUENCA	438	(432,32)	2	(7,58)	440
ALBACETE	736	(737,09)	14	(12,91)	750
TOTAL	4.167		73		4.240

$$\chi^2 = 5,8370$$

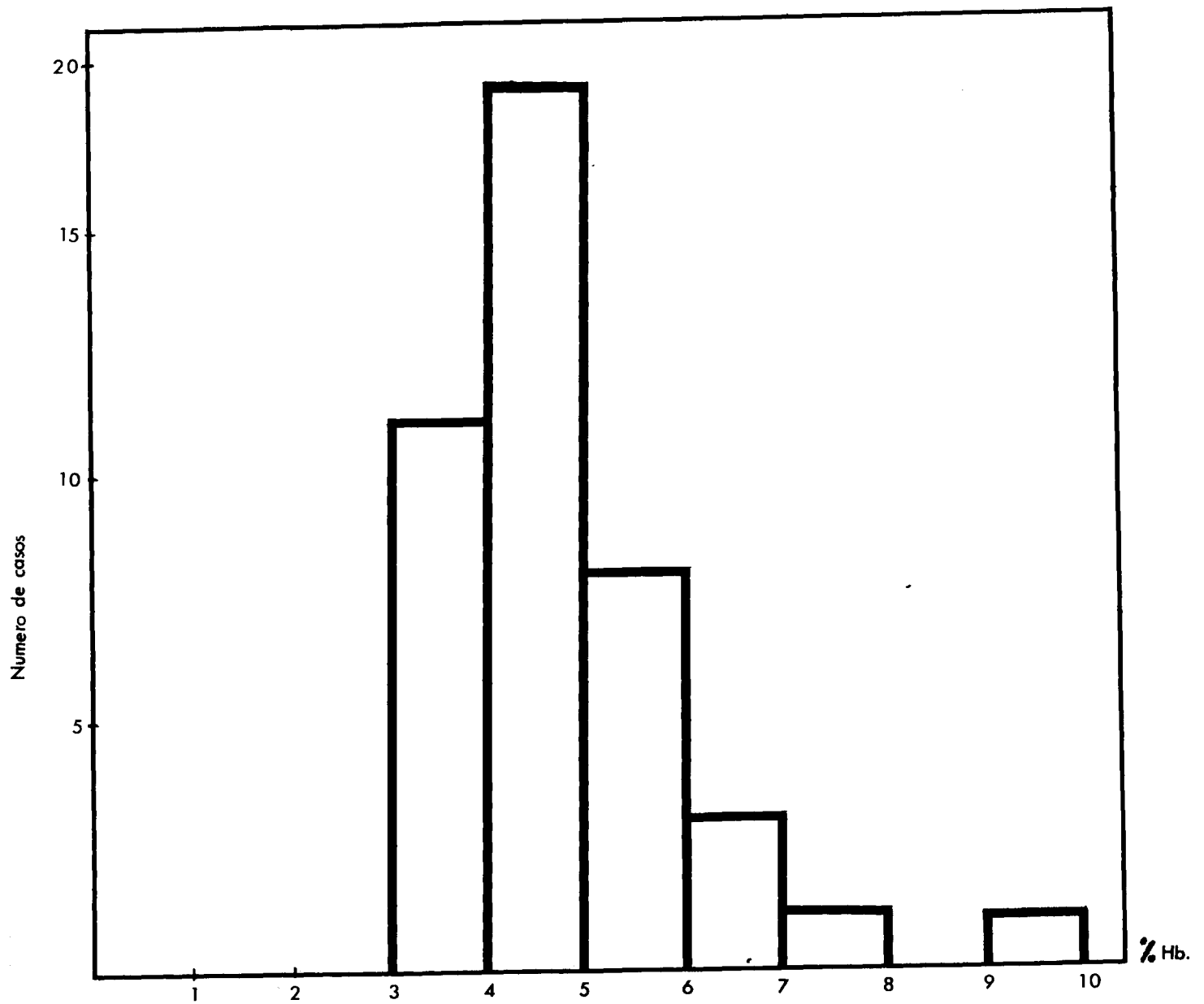
Para 5 grados de libertad

$$50 > P > 30.$$

CUADRO Nº 4

3,68	3,85	4,30	4,84	5,60
3,70	3,90	4,50	4,85	5,80
3,70	4,00	4,50	5,00	5,85
3,72	4,00	4,65	5,10	6,25
3,80	4,10	4,70	5,20	6,42
3,80	4,15	4,72	5,20	6,50
3,82	4,20	4,80	5,25	7,50
3,84	4,20	4,82	5,30	9,70
3,84	4,30	4,82	-,--	-,--

**Distribución de la hemoglobina A₂
sin que exista aumento de la hemoglobina F.**

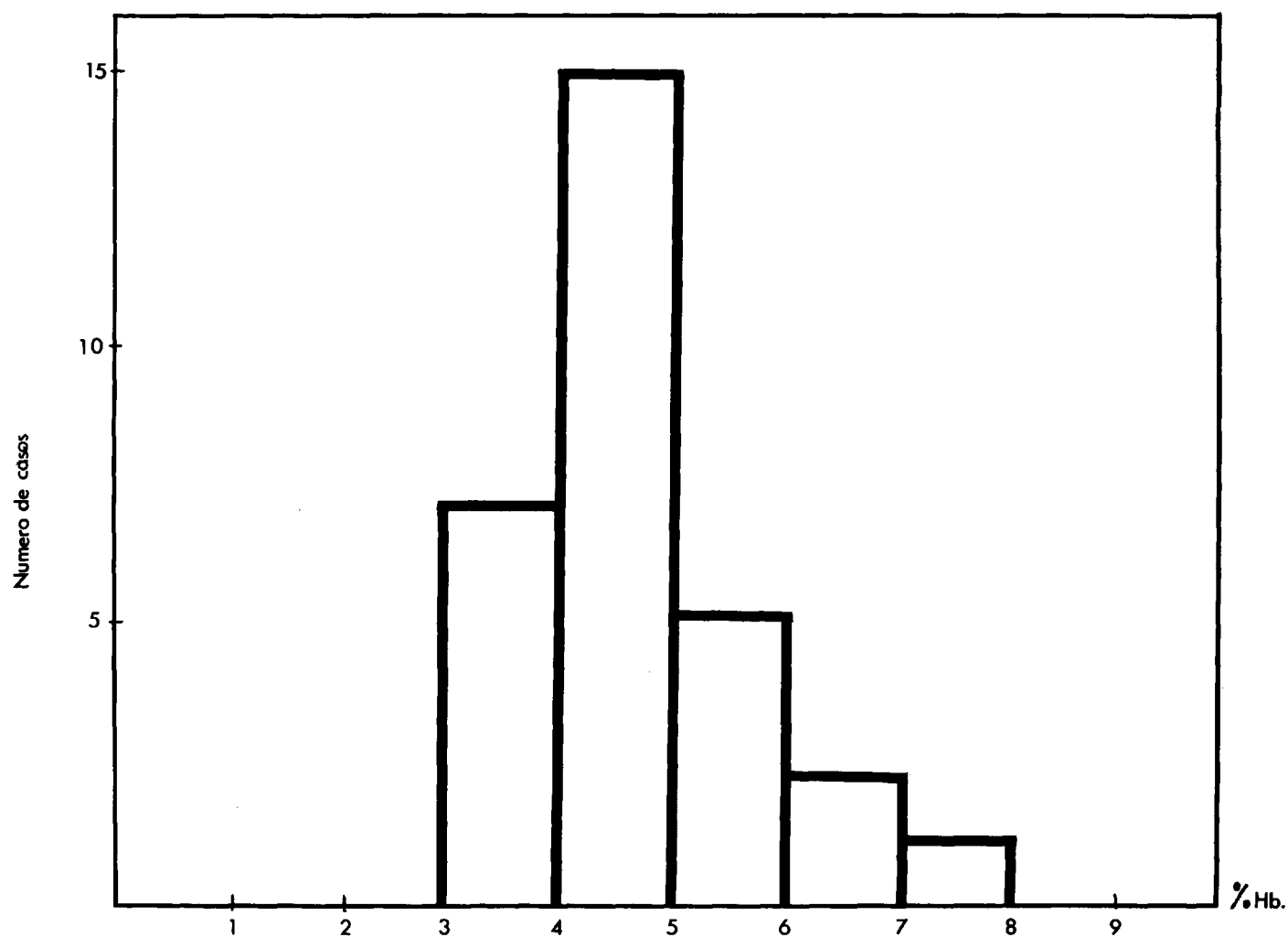


HISTOGRAMA A.₂ - Distribución de la hemoglobina A₂ en casos que presentan solo aumento de esta hemoglobina

CUADRO N° 5

3,65	3,90	4,20	4,60	5,40
3,71	4,00	4,50	4,60	5,60
3,72	4,00	4,50	4,70	5,80
3,83	4,00	4,50	4,85	6,00
3,85	4,00	4,52	5,00	6,20
3,85	4,20	4,60	5,30	7,30

**Distribución de la hemoglobina A_2
en los casos con aumento simultá-
neo de las hemoglobinas A_2 y F.**

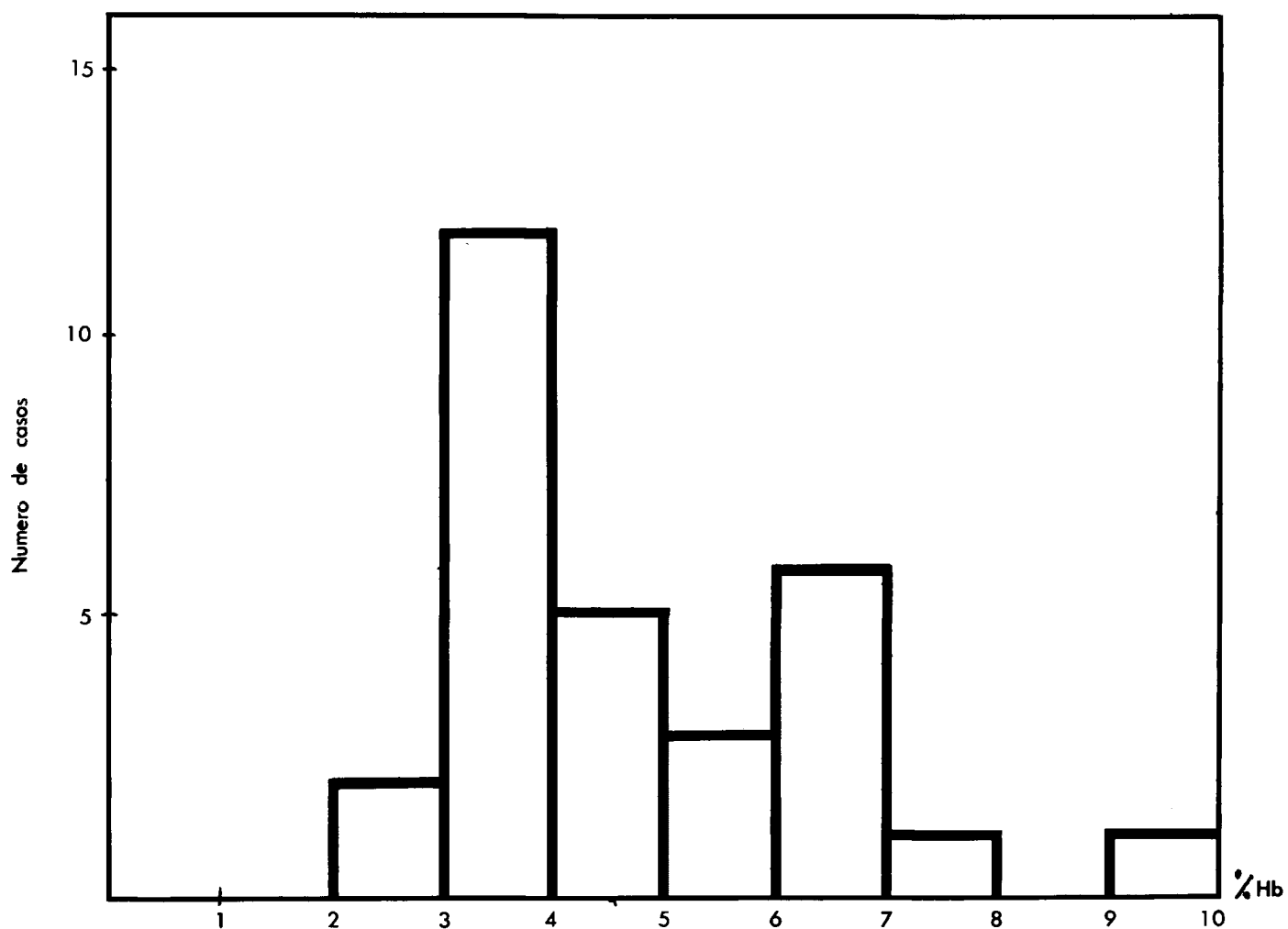


HISTOGRAMA B.—Distribución de la hemoglobina A₂ en los casos con aumento simultaneo de las hemoglobinas A₂ y F.

CUADRO N° 6

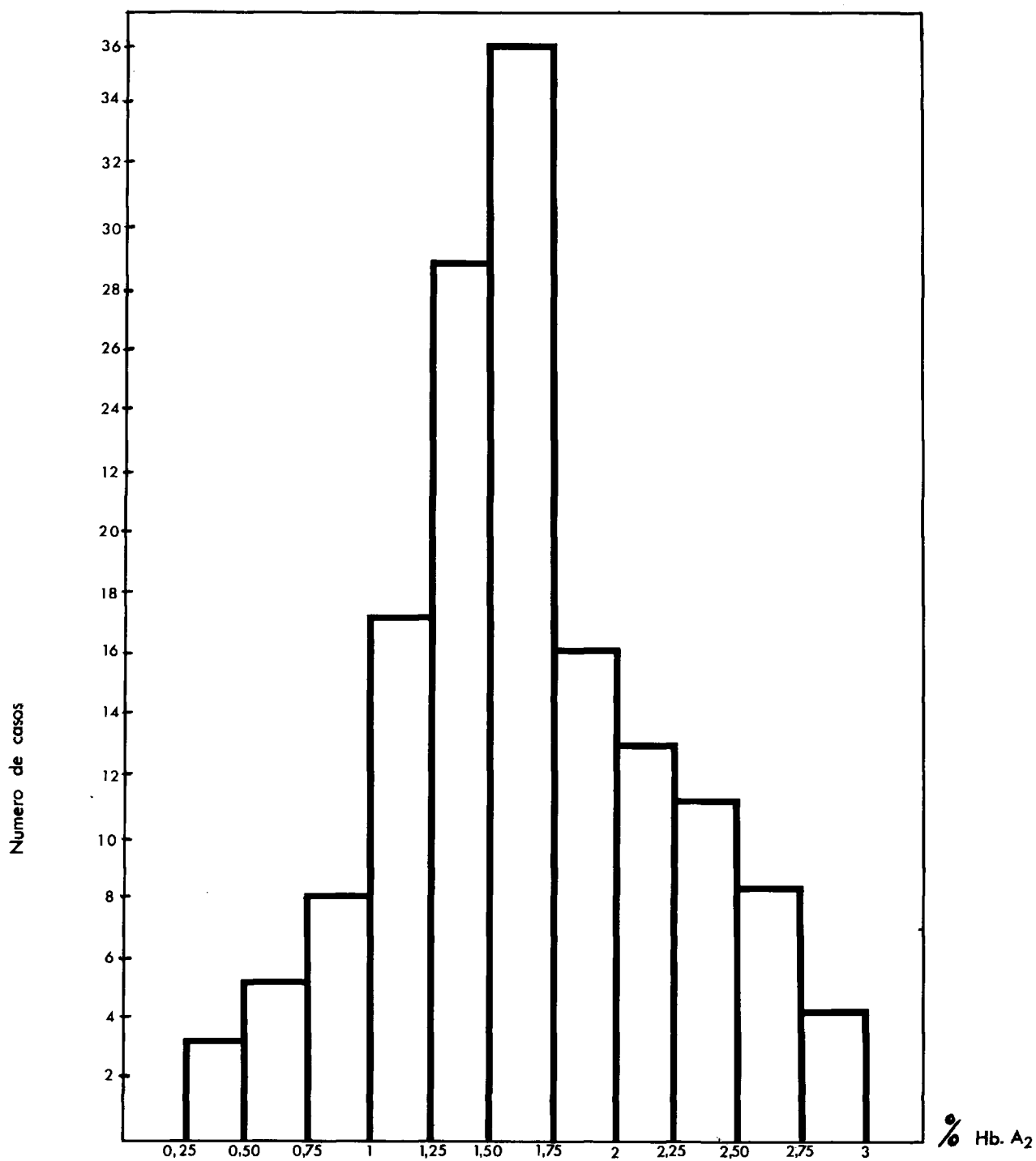
2,80	3,40	3,70	4,60	6,30
2,85	3,40	3,80	5,00	6,50
3,00	3,50	4,20	5,20	6,70
3,20	3,50	4,40	5,50	6,80
3,20	3,50	4,50	6,00	7,50
3,40	3,60	4,50	6,20	9,86

**Distribución de la hemoglobina F
en los casos con aumento simultá-
neo de las hemoglobinas A_2 y F.**



HISTOGRAMA C... Distribución de la hemoglobina F en los casos con aumento

simultaneo de las hemoglobinas A₂ y F



HISTOGRAMA D._ Distribución de la hemoglobina A₂ en 150 individuos
normales examinados.

3º HEMOGLOBINAS ANORMALES: RESULTADOS

Seguiente los métodos de diagnóstico de la talasemia fueron identificados tres casos de hemoglobinas anormales, cuya determinación no era objeto de este trabajo, pero que por ser las primeras de este tipo encontradas en España se ha considerado oportuno mencionarlas.

En el primero de los casos se trataba de una hemoglobina A-C en heterosis hallada en un individuo nacido en Malpartida de la Serena (Badajoz), en este caso fué posible analizar la sangre de los padres del individuo portador de la hemoglobina A-C, reflejando este análisis, que si bien la hemoglobina de la madre era una hemoglobina A normal, la del padre era una hemoglobina A-C igual a la de su hijo. Los valores hallados fueron 48,96% para la hemoglobina A y 51,04% para la hemoglobina C.

El segundo caso se trataba también de una hemoglobina A-C y fué encontrado en Ciudad Real, siendo una mujer la portadora de la citada hemoglobina A-C. Los valores correspondientes de ambas hemoglobinas fueron: 56% de hemoglobina A y 44% de hemoglobina C.

La tercera hemoglobina anormal fué identificada como una hemoglobina Lepore, siendo una mujer nacida en Puertollano (Ciudad Real) la portadora. Los valores hallados para las distintas hemoglobinas fueron: 72,75% de hemoglobina A; 2,42% de hemoglobina F; 19,26% de hemoglobina Lepore y 7,87% de hemoglobina A₂.

En estos dos últimos casos las familias no se prestaron a colaborar y no fué posible ampliar la investigación a otros miembros.

VII. DISTRIBUCION GEOGRAFICA Y DISCUSION.

12.- REPARTICION GEOGRAFICA DE LA DEFICIENCIA EN G6PD.-

El estudio de la repartición geográfica de la enzimopenia debería precisar, a la vez, la repartición general del déficit y la frecuencia respectiva de sus diferentes variedades en los diferentes grupos humanos considerados. Este estudio, falto de estadísticas precisas, no puede ser actualmente más que fragmentario y aproximativo: la mayoría de las encuestas realizadas se basan únicamente en la presencia o ausencia del enzima y no en su naturaleza. Aportan, sin embargo, notables informaciones.

La frecuencia general de la mutación no puede ser exactamente medida, pero probablemente, es elevada. Se estima en más de 100 millones el número de sujetos afectados en el mundo; el número de portadores del gen patológico es todavía más elevado, ya que mu-

chas hembras heterocigóticas están fenotípicamente consideradas como no "deficientes".

Se distribuirá la repartición geográfica de la deficiencia en G6PD en los cuatro grupos siguientes: 1º Europoides; 2º Mongoloides; 3º Negroides; 4º Otros grupos humanos.

1º EUROPOIDES.--

La deficiencia parece existir en todas las razas blancas y su frecuencia ha sido estimada en una media de 0,1 por ciento para el conjunto de la población europea. (Esta media, así como todos los valores indicados seguidamente, corresponden a la frecuencia de deficiencia enzimática encontrada en varones. Las cifras observadas en las mujeres son, evidentemente, más débiles).

Esta media "europea" no tiene gran significación pues el nivel de mutación varía notablemente con las zonas geográficas.

De hecho, conviene establecer una clara distinción entre los pueblos de Europa Septentrional y Occidental por una parte, y los pueblos de Europa Meridional y las riberas mediterráneas y Oriente próximo por otra parte.

Europa Septentrional y Occidental.-

El déficit es de hecho excepcional. El número de casos encontrados es muy pequeño. Los déficits observados son graves y se presentan, frecuentemente, bajo forma de anemia crónica espontánea.

Europa Meridional. Riberas del Mediterráneo. Oriente Próximo.-

Los déficits encontrados son graves y se manifiestan corrientemente bajo la forma de accidentes agudos intensos.

Italia.- La frecuencia de la deficiencia pasa de 0,2 por ciento en el Norte del país, a cifras mucho más elevadas en Sicilia y sobre todo en Cerdeña (hasta un

34%) (Adinolfi, 1960; Sansone, 1958; Siniscalco y col. 1960, 1961).

Grecia.- En Grecia, Chorenis (1962), Zannos-Maricolas y col (1961), encuentran cifras que varían de 1 a 3%. La tasa podría ser más elevada en ciertos focos de la Grecia Insular. Estos mismos autores señalan para Chipre una frecuencia superior al 3% (3,5% en los chipriotas de origen turco, 3,2% en los chipriotas griegos). Según Fessas (1962), en Atenas, en 800 muestras de sangre examinadas en recién nacidos, la deficiencia encontrada es de 2,45%.

Turquía.- La deficiencia se observa en casi todas partes. Es máxima en los Etio-turcos (11,4%); 1,92% en los Kurdes; 0,94% en los turcos de Esmirna; ausente de las comunidades griegas, armenias y judías que habitan Turquía.

Bulgaria - Rumania.- La deficiencia existe, pero se ignora su frecuencia exacta (sin duda, débil).

Israel. - Un interés particular presenta la repartición de la deficiencia entre las diversas poblaciones judías. Los autores israelitas han mostrado que el déficit:

1º era raro entre los judíos Aschkenazims (0,4%)

2º mucho más frecuente entre los judíos Sefarditas.

3º alcanzaba su máximo (así como una de las tasas más elevadas conocidas en el mundo) en los judíos del Kurdistán (58%).

En el cuadro que se da a continuación, figuran los resultados obtenidos por Sheba y col. (1961) en las diferentes comunidades de Israel.

LUGAR DE ORIGEN	Nº DE INDIVIDUOS EXAMINADOS	PORCENTAJE DE VARONES DEFICIENTES
COMUNIDADES JUDIAS		
ASIA:		
KURDISTAN	196	58,2
CAUCASO	25	28,0
BAGDAD	902	24,8
IRAN	557	15,1
COCHIN	58	10,3
SIRIA Y LIBANO	80	6,3
YEMEN	415	5,3
INDIA	102	2,0
AFRICA DEL NORTE:		
MARRUECOS	219	0,5
TUNEZ Y ARGELIA	112	0,9
LIBIA	219	0,9
EGIPTO	112	3,6
SEFARDITAS:		
TURQUIA	256	1,9
GRECIA, BULGARIA	152	0,1
OTROS	93	2,2
ASQUENAZIS	819	0,4
OTRAS COMUNIDADES:		
SAMARITANOS	31	-,-
ARABES	264	4,4
DRUZES	92	4,4

Libano.- En el Libano, Ruffié y Taleb (1965) han señalado que la frecuencia del déficit variaba con los grupos étnicos (prácticamente ausente en los Drusos de la montaña, la mutación alcanzaba 6,18% con los Sunnitas). En el cuadro siguiente figuran estos resultados.

COMUNIDADES	Nº INDIVIDUOS EXAMINADOS	Nº DE CASOS ANORMALES	%
SUNNITAS	97	6	6,18%
CHIITAS	101	5	4,95%
DRUSOS	103	0	0
MARONITAS	117	5	4,27%
GRIEGOS ORTODOXOS Y CATOLICOS	87	1	1,15%
ARMENIOS	36	0	0
CRISTIANOS	6	0	0
TOTAL	549	17	3,09%

Arabia Saudita.- La deficiencia se presenta en 12,6% de los varones, pero únicamente en las provincias orientales.

Su frecuencia aumenta claramente (hasta alcanzar 24,4% e incluso 63,4%) en ciertas regiones con cierta endemia malárica habitadas por musulmanes.

Los hombres del desierto (beduinos) parecen completamente indemnes.

Irán.-- En Irán, Bowman y Walker (1961) observan las cifras siguientes:

POBLACIONES	DEFICIENTES	NORMALES	TOTAL	% DEFICIENTES
MUSULMANES	78	906	984	7,9
ZOROASTRITAS	0	146	146	0
ARMENIOS	1	156	157	0,6
TRIBUS:				
GHASHGHAI	15	118	133	11,3
BASSERI	11	72	83	13,3
MAMASSANI	18	73	91	20,0

El gen es muy raro en los Armenios y quizás esté ausente en los Zoroastritas que representan, sin duda

las poblaciones más primitivas del Irán, y que han sufrido, a lo largo de su historia, un aislamiento religioso bastante estricto. Esto hace pensar a Rowman y Walker que la deficiencia ha sido introducida en el país por los invasores árabes.

Irak.- La deficiencia existe, pero no hay ninguna estadística global; ella debe ser causante de la "anemia primaveral" de Bagdad, de Lederer, que no parece ser más que una forma del favismo.

India.- La enzimopenia existe en la India, pero ninguna estadística de conjunto ha sido todavía publicada.

Africa del Norte.- La deficiencia es bastante frecuente sobre la ribera sur del Mediterráneo. Suadeau (1965) estima que el nivel medio es aproximadamente de 2,78% para el conjunto de la población de Argelia, pero con variaciones locales a veces importantes.

2º MONGOLOIDES.-

También se observan en este grupo formas

agudas graves, ligadas al déficit enzimático profundo, que son observadas en poblaciones amarillas. La frecuencia enzimática varía mucho según las poblaciones.

Tailandia. - Las tasas más elevadas han sido observadas en ciertas provincias de Tailandia (36%).

China. - En China se han observado porcentajes muy variables, desde 0,33% a 4,53%, pero faltan datos concretos sobre la distribución de la deficiencia en China Continental. La frecuencia del favismo, conocida desde hace mucho tiempo, en China meridional, parece testificar la relativa frecuencia de la mutación enzimopénica.

Japón. - La deficiencia parece ser bastante rara en Japón.

3º NEGROIDES. -

La deficiencia es muy frecuente en los grupos negroides donde, en el centro africano, más de un cuarto de la población está afectado.

Africa.-- Se encuentra además del 27% de ensimopé-
nicos en las tribus del Este africano, el 24% en
Nigeria (Gilles, 1961; Harris, 1961), y el 22% en
otros grupos de población.

América.-- Las cifras publicadas en las poblaciones
negras americanas son muy variables y están relacio-
nadas con el grado de mestizaje: de 20% (U.S.A.) a
5% o menos en las Antillas y en Brasil (Netulsky,
1961, 1962; Oskey, 1963; Pollitzer, 1958).

42 OTROS GRUPOS HUMANOS.--

Oceanía.-- Se observa que la deficiencia está presen-
te en los Melanesios (Nueva Bretaña: 1,66%; Nueva
Guinea: 0,78%). Kidson, 1962.

La deficiencia parece que está ausente en
los aborígenes australianos.

DISTRIBUCION DE LA DEFICIENCIA DE G6PD EN ESPAÑA.--

Debido a su situación geográfica, era ló-

gico suponer que España estuviese afectada, en mayor o menor grado de deficiencia en G6PD, ya que tal carencia enzimática ha sido considerada durante muchos años como enfermedad típicamente mediterránea aunque, como sabemos hoy día, su distribución no se limita exclusivamente a esta zona.

Así, casos aislados de favismo (manifestación clínica del déficit de G6PD) han sido observados en varias provincias españolas; de igual forma, se han descrito casos de enfermedades alérgicas de origen medicamentoso o nutricional debidas probablemente a una deficiencia de G6PD. De todas formas, hasta 1966, fecha en que se inicia este tipo de trabajos en nuestro laboratorio, no se conocen datos relativos a la frecuencia de la deficiencia en G6PD en muestras de población.

En la tabla nº 6 se dan la frecuencias observadas en las diferentes provincias examinadas hasta el momento.

TABLA No 6

FRECUENCIA DE DEFICIENCIA EN GGPD EN PROVINCIAS ESPAÑOLAS

PROVINCIAS	INDIVIDUOS EXAMINADOS		INDIVIDUOS DEFICIENTES		VALORES
	V	N	V	N	
CACERES	288	557	3	3	1.04
BADAJOS	330	575	2	3	0.606
GUADALAJARA	222	478	0	3	0.00
CIUDAD REAL	200	400	1	1	0.50
CUENCA	290	150	0	1	0.00
ALBACETE	320	430	1	3	0.31
MADRID	266	334	2	2	0.75
HUELVA	269	258	2	4	0.74
MURCIA	203	203	1	0	0.48
CORUÑA	304	221	1	4	0.32
VIZCAYA	180	220	2	3	1.10
TOTAL	2.884	3.826	15	29	0.520

28.- REPARTICION GEOGRAFICA DE LA TALASEMIA.

Se pueden distinguir tres etapas en la historia del conocimiento geográfico de la talasemia:

18. En 1925, la talasemia es descrita por Coeley en niños de origen italiano, griego o sirio, pero nacidos en el Nuevo Mundo.

29.- Un poco más tarde es encontrada sobre las mismas riberas donde había nacido por médicos mediterráneos, algunos pesados de no haber sido los primeros en descubrirla. Es el tiempo en que la talasemia recibe su nombre y en que causa admiración el hecho de que la descripción de una enfermedad del Mediterráneo sea hecha por un médico de Nueva York.

30. El estudio de focos asiáticos, todavía insuficientemente explorados, pero seguramente importantes, a la vez que extienden el área geográfica de la enfermedad y plantean el problema de la relación de

los focos mediterráneos y asiáticos.

MEDITERRANEO CENTRAL Y ORIENTAL.- La talasemia es observada, sobre todo, en el Mediterráneo Central y Oriental.

Italia.- De todos los países mediterráneos ha sido Italia el mejor estudiado, gracias a los trabajos de Silvestroni y Bianco que, en 20 años aproximadamente han examinado más de cien mil individuos.

12.- Las investigaciones han permitido reconocer focos de frecuencias elevadas (10 a 28% e incluso más).

a) Delta del Po, en una región triangular en la que el máximo corresponde a la región de Ferrara, en la base de la costa adriática.

b) Región costera del sur de la Península.

c) Sicilia, sobre todo, al sur de la isla.

d) Cerdeña, casi toda la isla a excepción de la región central.

22.- En todo el resto de Italia, la frecuen-

cia de talasemia es más moderada (0,4 a 5%). El límite es a veces muy preciso entre zonas de alta frecuencia (Ferrara) y zonas con baja frecuencia (Bologna). Los casos esparcidos por toda Italia proceden, generalmente, de focos de alta frecuencia.

Grecia.- La talasemia es, sin duda, menos frecuente en Grecia que en Italia. En 1962, Malanog y colaboradores encuentran 7,44% de talasemia en un contingente de 1500 soldados. Un 19 por mil de los niños admitidos en dos grandes hospitales pediátricos de Atenas entre 1948 y 1955 estaban afectados de talasemia mayor.

Aparece más o menos extendida por todo el territorio de la Grecia continental, y en las islas. Ha sido encontrada en Tebas, Peloponeso, Samos, Creta, Tesalia, etc.

Chipre.- La distribución de la talasemia es bastante uniforme en Chipre, de 17 a 28% de la comunidad griega y de 21 a 23% en la comunidad turca.

Turquía.- La talasemia es frecuente en Turquía y ha sido observada en Estambul, sobre la costa mediterránea de Asia Menor - en particular en Esmirna y Anatolia -. La mayoría de los sujetos afectados son turcos; algunos, etiturcos.

Libano.- La talasemia es relativamente frecuente en las comunidades libanesas (de 1 a 3%) (Cahannes, Ruffié, Taleb, 1965). Abunda más entre los musulmanes que entre los cristianos. No ha sido encontrada en Jordania pero si se ha observado en Siria y en Turquía donde se han descrito casos de α -talasemias.

PAISES DEL MEDITERRANEO OCCIDENTAL.- La talasemia es más rara en los países del Mediterráneo occidental. Ha sido observada con una cierta frecuencia en Córcega. Existe solamente en estado esporádico en Francia continental y en Portugal. Trinãe y colaboradores señalan, sin embargo, tasas de 0,74% para la población de Lisboa.

Africa del Norte.- Es más frecuente en los países de

Magreb donde, según Cabannes, Portier y colaboradores, su frecuencia varía de 2 a 11%. Existe en Egipto, donde ciertos focos localizados exceden del 20%.

EUROPA SEPTENTRIONAL.— Se encuentra de una manera excepcional en los países de Europa Septentrional.

ASIA.— La talasemia se encuentra en toda Asia, Oriente Medio y costas del Mar de China.

Irán.— Ponya estima que la talasemia constituye el 10% de las anemias diagnosticadas. La máxima frecuencia se observa en las riberas del Mar Caspio.

India.— Está presente en todo el país, pero debido a la ausencia de encuestas sistemáticas no es posible localizar los focos de frecuencia elevada. En 1957, Chatterjee y colaboradores estiman en 3,7% en un lote de la población de Bengala. Trincao, encuentra 2,4% en Goa y Siddoo y colaboradores un 10% en la población de Sikh. La tasa subiría hasta un 22% en ciertas muestras de población de Madrás.

Tailandia.- Se han señalado frecuencias de 12 a 13%. Se sabe que la talasemia está difundida en Camboya, Laos, Viet-Nam y en China del Sur, pero no se conocen porcentajes precisos.

Se observa también talasemia con una frecuencia elevada en Indonesia.

AFRICA NEGRA.- Las estadísticas sobre la frecuencia de talasemia en Africa Negra son bastante escasas. Se admite, sin embargo, que la talasemia se encuentra en Africa Negra (en particular, en Africa Central, Congo, Leopoldville, y en Africa Occidental con focos de alta concentración, tal sería el de Kartúm en el que Vella y colaboradores han encontrado un 31,5%).

AMERICA.- La importancia de la inmigración mediterránea en América del Norte y en América del Sur explica la frecuencia relativa de la talasemia observada en los E.E.U.U., Brasil, Argentina, etc. No se ha observado todavía en ningún aborigen.

Si se atiende a la repartición de las diferentes formas genéticas, se observa que los tres tipos talasémicos coexisten en la mayoría de los focos mundiales, aunque generalmente con predominio de uno de ellos.

Beta-Talasemia.- A_2 Talasemia.- Es la forma más común en Europa (en Grecia, Malanog, en un conjunto de 1500 individuos encuentra 7,44% de talasémicos, de los cuales, el 77% eran del tipo A_2).

Beta-Talasemia.- F Talasemia.- Esta sería la forma más rara en Europa, y la más frecuente en Asia y en Africa.

Alfa-Talasemia.- Es siempre más rara que las dos formas precedentes, y sería originaria de China. Se ha observado sobre todo en Tailandia, Filipinas y en Indonesia. Existen algunos focos en Irán, Turquía y Grecia. Por el contrario, no parece haber sido descrita en Italia.

Hemoglobina F abundante.- Se presenta, generalmente,

en individuos de raza negra que tienen hemoglobina en cantidad normal, pero en los que toda, o bien, parte muy considerable, está constituida por hemoglobina F. Dichos sujetos no presentan ningun signo talasémico, pero serian portadores de una mutación del gen regulador que, bloqueando la producción de cadenas β y δ , permitiría su reemplazamiento total por las cadenas ϵ . Según que los individuos sean heterocigóticos u homocigóticos poseerán las tres hemoglobinas normales o solamente hemoglobina F. En Liberia la frecuencia de portadores de esta mutación alcanza de 0,1 a 1,6%. Se la encuentra en América del Norte en las poblaciones negroides o mestizas.

DISTRIBUCION DE LA TALASEMIA EN ESPAÑA.-

Al igual que en el caso de la deficiencia en G6PD, las condiciones geograficas, étnicas e historicas, así como la posible influencia selectiva que el paludismo haya podido ejercer sobre el gen, hacen pensar que la talasemia ha existido en España.

El primer caso de talasemia mayor es descrito por Sendraill (1936). Posteriormente se han observado casos de talasemia: Jaso y colaboradores (1942); Jiménez Díaz y colaboradores, etc, hasta un total de 41 casos distribuidos por toda la geografía española. Todas estas observaciones que fueron recopiladas por el Dr. Cruz Hernández (1964) son solo casos aislados. Los primeros resultados de la frecuencia de talasemia en muestras de población se empiezan a publicar en 1967 (Pellicer).

En la tabla nº 7 se dan las frecuencias observadas en las diferentes provincias examinadas hasta el momento.

En las figuras nºs. 1, 2 y 3 se dan los mapas de la distribución mundial de la deficiencia de G6PD, de la Beta-Talasemia y de la malaria respectivamente. En la figura nº 4 se da un mapa de España en el que se consignan las frecuencia de deficiencia en G6PD y talasemia en todas las provincias

examinadas hasta el momento, así como el grado de paludismo de que estuvieron afectadas dichas provincias antes de su erradicación.

TABLA Nº 2**FRECUENCIA DE TALASEMIA EN PROVINCIAS ESPAÑOLAS**

PROVINCIAS	INDIVIDUOS EXAMINADOS	INDIVIDUOS CON TALASEMIA	%
CACERES	845	13	1,25
BADAJOS	905	20	2,20
GUADALAJARA	700	13	1,85
CIUDAD REAL	600	11	1,83
CUENCA	440	2	0,45
ALBACETE	750	14	1,86
MADRID	6.610	80	1,21
HUELVA	527	9	1,70
MURCIA	408	14	3,43
CORUÑA	525	17	3,23
TOLEDO	457	5	1,09
VIZCAYA	400	0	0,00
JABN	565	7	1,23
TOTAL	13.732	205	1,49

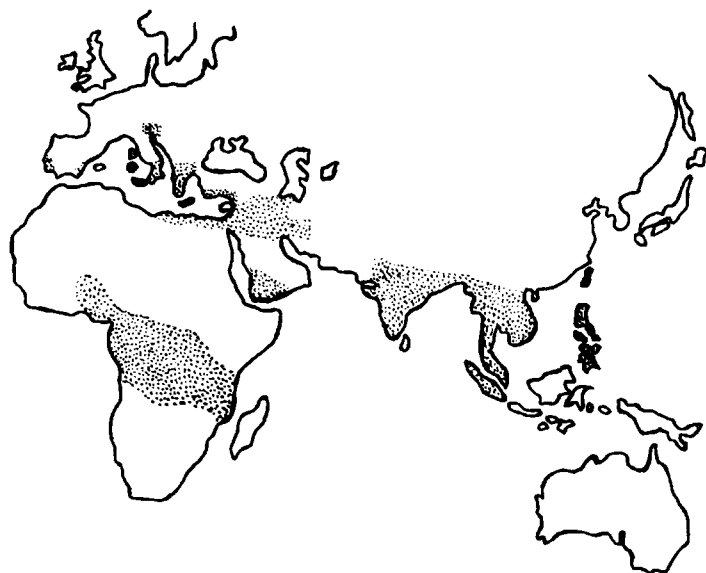


Figura nº 1.- Mapa de la distribución de la
deficiencia de G6PD.

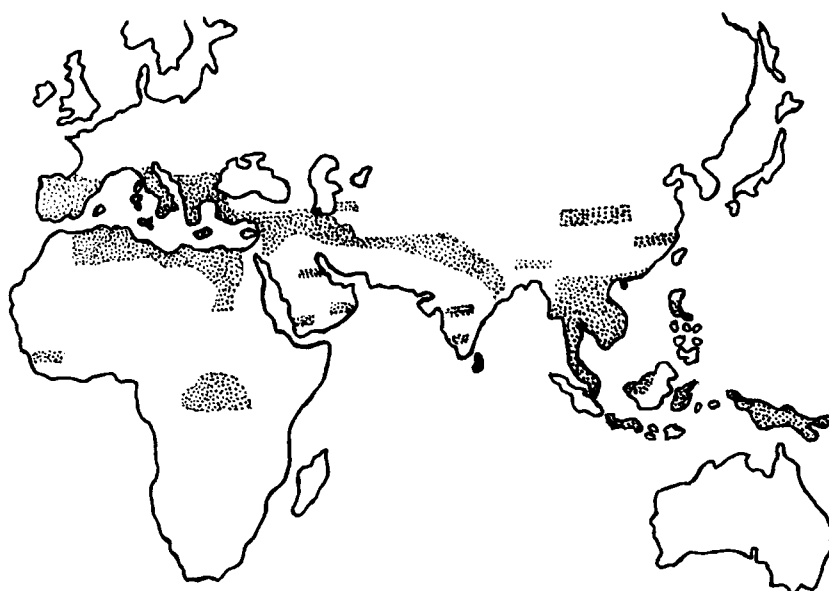


Figura nº 2.- Mapa de la distribución de la
beta-talasemia.

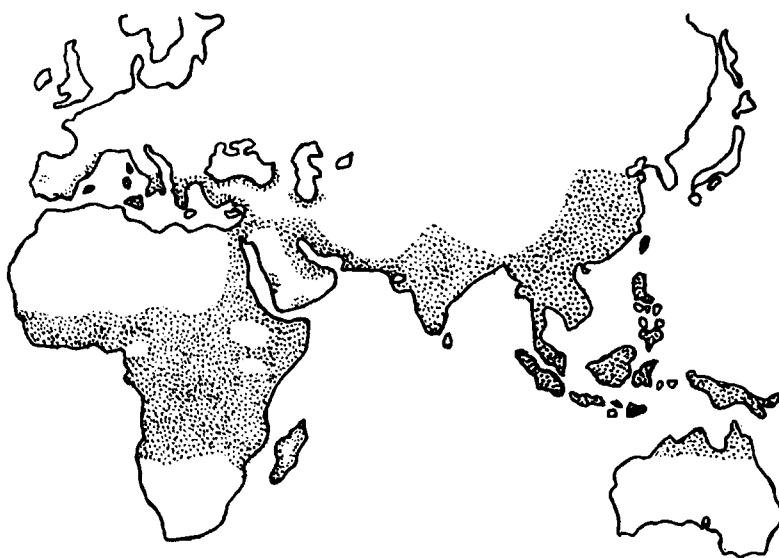


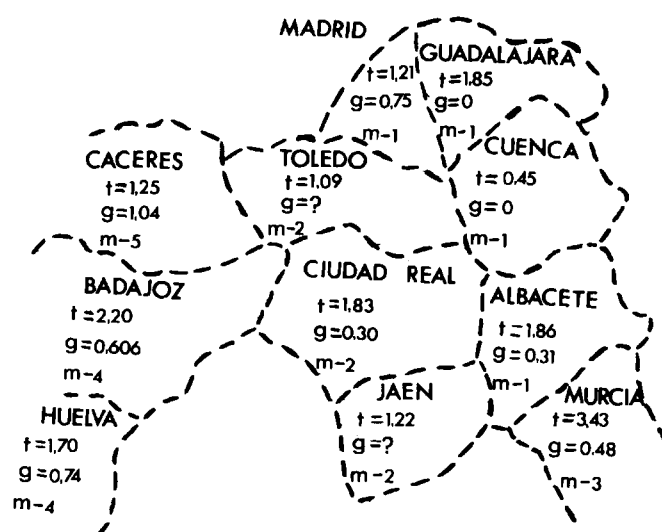
Figura nº 3.- Mapa de la distribucion mundial de
la malaria.

CORUÑA

t=3.23
g=0.32
m=0

VIZCAYA

t=0
g=1.10
m=0



GRADO DE MORTALIDAD MALARICA

De	1	a	25	...	1
De	26	a	50	...	2
De	51	a	100	...	3
De	101	a	150	...	4
Más de	150	...	5		

T = Frec. de Talasemia

G = Frec. defici. G6PD

32.- REPARTICION GEOGRAFICA DE LAS HEMOGLOBINAS C Y LEPORE.-

A) HEMOGLOBINA C.-

AFERICA OCCIDENTAL.- La hemoglobina C está estrictamente localizada en el Oeste africano. Su máxima concentración se situa sobre la meseta volcánica (donde se encuentran hasta el 25% de los portadores). A partir de allí, las frecuencias observadas disminuyen, con bastante regularidad, pero la hemoglobina C se encuentra (hay que reconocer que con una tasa muy débil) en todo el conjunto oeste del continente africano: su límite es pues, el de la costa del Magreb al Norte, la costa occidental africana al oeste, y el golfo de Guinea al sur. Al este su límite de difusión se situa al nivel de una línea teórica que uniría el golfo de Gabes al golfo de Guinea. Más allá de esta frontera no se en-

cuentran más que casos esporádicos, sin duda, importados. Este límite es admisible, no solamente para las zonas muy pobladas (Africa del Norte, Africa tropical), sino también para la zona desértica.

Si se consideran las divisiones políticas, la hemoglobina C alcanza su máxima frecuencia en el Alto-Volta, en Ghana y en una parte de Nigeria. Los porcentajes observados pueden variar con las diferentes tribus.

En el Alto-Volta las frecuencias observadas oscilan de 13,6 a 25% (Cabannes); en el Norte de Ghana de 14,4 a 26,8% (Cabannes); en el Sur de Ghana la frecuencia baja hasta un 10% (Lehmann, 1956)

En Nigeria Occidental (al oeste del río) se encuentra de 6 a 7% en las tribus Yoruba (Lehmann, 1959). Al este del río la frecuencia de la hemoglobinosis parece bajar bastante bruscamente y así se encuentra un 1% en algunas tribus; 0,4% en Camerún.

La hemoglobina C está prácticamente ausente en el Congo (Leopoldville) y en los países situados al este y al sur.

AFRICA SEPTENTRIONAL.- Hacia el Norte, por el contrario, la hemoglobina C llega hasta la costa Mediterránea (3% en el Sáhara, Cabannes y Ruffié, 1961) de 1 a 2% en Argelia (Cabannes, 1960). Las frecuencias varían mucho con los grupos humanos.

La hemoglobina C parece estar ausente en ciertas fracciones bereberes y es, por el contrario, relativamente frecuente en la zona costera de Kabyle, en ciertos aislados como el de Dahra, etc.

En toda la zona occidental africana, coexisten en numerosos focos Hb.S y Hb.C; de ahí que sea bastante frecuente encontrar individuos heterocigóticos para ambas hemoglobinas Hb.S / C.

AMERICA.- La hemoglobina C penetra en el continente americano en el momento de la trata de

negros. Se la encuentra en todas las comunidades que proceden del oeste africano: 0,3 a 1,8% en América del Norte (Lawrence y col., 1952); 1,3% en Puerto Rico (Suárez y col., 1959); 3,1% en Jamaica (Went y Mc Iver, 1958).

OTRAS REGIONES.- La hemoglobina C está ausente en Asia y Europa. Por otra parte, no existe en los individuos de raza blanca. Se han descrito algunos casos raros, siempre aislados y familiares (Estados Unidos, Italia, Africa del Sur) que tienen sin duda su explicación en un antiguo mestizaje negroide a veces olvidado.

B) DISTRIBUCION DE LA HEMOGLOBINA LEPORE.-

Debido al escaso número de portadores de la hemoglobina Lepore que se conocen (Lehmann calcula que oscilan alrededor de 30 los casos conocidos), no es posible dar una distribución de esta hemoglobina al igual que se ha hecho con la deficiencia en G6PD,

la talasemia, y la hemoglobina C. Se hará mención, no obstante, de aquellos lugares en que ha sido encontrada.

Gerald y Diamond (1958) descubrieron una nueva variante de la hemoglobina, que llamaron hemoglobina Lepore Boston.

Hemoglobina anormal con las características de la hemoglobina Lepore Boston ha sido encontrada en italianos (Gerald y Diamond, 1958; Pearson, Gerald y Diamond, 1959; Wolf e Ignatov, 1963). En griegos, hemoglobina Lepore Pylos (Fessas, Stamatovannopoulos y Karaklis, 1962). En Nueva Guinea (papués), hemoglobina Lepore Hollandia (Neeb, Beiboer, Jonxis, Kaars-Sijpesteijn y Müller, 1961). Y en turco-chápriotas, hemoglobina Lepore Cyprus (Beaven, Grätner, Stevens, Shooter, Ellis, White y Gillespie, 1964).

DISTRIBUCION DE LAS HEMOGLOBINAS C Y LEPORE
EN ESPAÑA.-

En el curso de este trabajo, aunque como ya quedó aclarado en la introducción, sin ser objeto de él, han sido encontradas tres hemoglobinas anormales.

La primera hemoglobina anormal era una hemoglobina A-C en heterozigosis y el individuo portador de esta hemoglobina era natural de Malpartida de la Serena (Badajoz). Una segunda hemoglobina A-C en heterozigosis fue encontrada en una mujer nacida en Ciudad Real. La tercera hemoglobina anormal fue identificada como una hemoglobina Lepore, siendo una mujer nacida en Puertollano (Ciudad Real) la portadora.

No se conoce hasta el momento ningún otro caso de hemoglobinosis A-C por una parte, y Lepore por otra, en España, aparte de las descritas en este trabajo.

DISCUSION

12.- DEFICIENCIA EN G6PD.

La mayor parte de los trabajos realizados hasta ahora sobre la distribución de la deficiencia de G6PD en la población, se han limitado a la detección del déficit enzimático mediante métodos relativamente sencillos. Sólo una parte muy pequeña de las investigaciones han comprendido determinaciones cuantitativas ó estudios electroforéticos. Así, toda tentativa de precisar la distribución mundial de la deficiencia de G6PD ha de limitarse a aquellas que provocan una deficiencia enzimática bastante pronunciada.

A pesar de todo, se calcula que en el mundo hay por lo menos 100 millones de personas con alguna forma de deficiencia de G6PD.

La distribución de la deficiencia de G6PD está estrechamente asociada a la del paludismo en el

sentido de que todas las regiones en donde es frecuente algún tipo de deficiencia de G6PD son ó han sido regiones de intensa endemividad palúdica. El hecho de que en algunas regiones palúdicas no se haya encontrado ninguna deficiencia de G6PD, o con frecuencia muy baja, no resta en modo alguno importancia a esta observación, pues es de suponer que el paludismo sólo puede actuar como agente selectivo si el gen de la deficiencia de G6PD ha sido introducido en una población por mutación ó emigración.

Cualquiera que sea la validez de la hipótesis relativa a la influencia del paludismo, el hecho de que sólo algunas de las variantes de la G6PD, haya alcanzado una frecuencia apreciable, induce a pensar que en el mantenimiento del polimorfismo observado en el locus de la G6PD hayan podido intervenir mecanismos selectivos.

En otros casos puede pensarse que la deficiencia de G6PD aparece como un factor racial, que podría alcanzar una frecuencia elevada en poblaciones

que viviesen en condiciones de endogamia más ó menos estricta.

En términos generales puede decirse que la deficiencia enzimática grave (con movilidad electroforética normal) es especialmente frecuente entre las poblaciones de la cuenca mediterránea, el Oriente Medio y el Lejano Oriente, mientras que la forma leve (con movilidad electroforética de tipo A) sólo es corriente en poblaciones africanas.

Por lo que respecta a la distribución de la deficiencia de G6PD en las provincias españolas examinadas, se observa que en todas ellas las frecuencias obtenidas son muy bajas. La oscilación está comprendida entre 0,31% en Albacete y 1,10% en Vizcaya, con dos provincias: Cuenca y Guadalajara en las que no se ha observado ningún varón deficiente.

También resultan muy bajas las frecuencias españolas al compararlas con las registradas en algunos países mediterráneos tales como Italia, en que la frecuencia de deficiencia de G6PD oscila de 0,2 a 34%;

Grecia de 1 a 32%; Turquía de 1 a 11%, etc.

Son por el contrario más semejantes a las españolas las frecuencias obtenidas en el Norte de Africa (2,78% de media), Yugoslavia 1% y Francia donde hasta el momento solo se han citado algunos casos esporádicos.

Todo esto hace pensar que, independientemente de la acción que el paludismo haya podido desempeñar en la prevalencia de la enzimopenia, existen otros factores raciales, ecológicos y nutricionales que condicionan la distribución tan heterogénea que presenta la deficiencia de G6PD en el mundo.

22.- TALASEMIA.

La repartición de las talasemias plantea un problema antropológico todavía no resuelto. Varias explicaciones han sido propuestas, aunque no todas están fundadas en hechos ciertos.

1ª Emigración del oeste al este.- Se ha supuesto que la talasemia habría sido llevada de las regiones mediterráneas a la India por la armada de Alejandro Magno, y que de la India habría alcanzado, posteriormente, a Asia del Sur y a China. La relativa rareza de la talasemia en la India y en Birmania, hace pensar que esta hipótesis es poco verosímil.

2ª Emigración del este al oeste.- La talasemia para L. Brumpt sería una hemopatía euroasiática llevada por los mongoles que serían los responsables de su introducción en China del Sur, dos siglos antes de nuestra era. Los chinos la han diseminado en todo el Sudeste

asiático. En Europa, después de Atila, los Hunos entraron al servicio de los bizantinos como mercenarios y fueron dispersados en todas las guarniciones del Mediterráneo. La distribución geográfica de la talasemia corresponde a la Carta del Imperio de Bizancio en su apogeo.

Para este autor, la talasemia sería una "mongolemia".

Esta teoría, que es muy sugestiva, está sujeta a dos críticas muy severas:

- a) No tiene en cuenta las diferentes mutaciones que condicionan no una sino al menos tres talasemias y que son, quizás, cada una "dominante geográfica propia".
- b) La tasa relativamente elevada de talasemia encontrada en ciertos focos mediterráneos no podría ser explicada más que por una fuerte acción selectiva en favor del gen; si se considera que esta acción no habría podido manifestarse más que durante un

periodo histórico relativamente breve, es poco probable que haya podido dar lugar a las frecuencias hoy día observadas.

Quizás sea posible admitir aquí ahora, la aparición de varias mutaciones en las diferentes zonas geográficas y en las que el área de expansión estuviera condicionada por los movimientos de grupos prehistóricos ó históricos y por la acción selectiva del medio.

Respecto a la distribución de la frecuencia de talasemia en las provincias españolas examinadas hasta el momento, se observa que la oscilación está comprendida entre 0,45% en Cuenca y 3,43% en Murcia, con una ciudad, Vizcaya, en la que no se ha observado ningún individuo afectado de talasemia.

En conjunto las frecuencias obtenidas son superiores a las encontradas para la deficiencia de G6PD y no difieren tanto como éstas de las halladas en otros países mediterráneos.

Por lo que respecta a la relación que pudiese existir con el paludismo, se observa que junto a provincias como Badajoz y Murcia, con alta endemia palúdica en el pasado, y que en la actualidad presentan un porcentaje de talasemia discreto, tenemos otra provincia, Coruña, con la máxima frecuencia de talasemia obtenida después de Murcia, y en la que el paludismo no ha existido.

No apoyan estos datos la teoría de Haldane (1949) sobre la ventaja selectiva que la talasemia confiere a sus portadores frente al paludismo, es por tanto necesario admitir que han debido existir otros factores que justifiquen el mantenimiento del gen talasémico en la población.

32.- HEMOGLOBINOPATIAS C Y LEPORE.

El lugar de origen de la hemoglobina C se situa en el Norte de Ghana, desde ahí se ha extendido en todas direcciones: Norte, Oeste, etc, con motivo de los cambios históricos de las poblaciones a través del Sahara (tráfico de esclavos). En este caso la presencia de hemoglobina C en el Sahara y en Mogreb no sería más que uno de los elementos constitutivos de la "onda de negritud" que partiendo del Sur ha afectado a Africa blanca, y en menor grado al Oriente Próximo.

Los dos casos de hemoglobinopatía A-C encontrados en este trabajo proceden de Malpartida de la Serena (Badajoz) y de Ciudad Real, provincias limítrofes en las que no se sabe que haya habido extranjeros africanos. Cabe pensar en un remoto antecesor de origen africano que hubiera venido a España durante

las invasiones moras.

Sin embargo, es también posible que esta hemoglobina hubiera llegado de un pequeño número de negros residentes hace algún tiempo en las provincias andaluzas (debido al tráfico de esclavos que se prolongó hasta principios del siglo XIX), ó bien de contactos a través de la cercana frontera de Portugal, donde otras hemoglobinas africanas ya han sido descritas. Hemoglobinas S y D han sido, también, encontradas en España por Escartin, Chantar, Candell, y Anaya. La posibilidad de un origen mutacional para esta hemoglobina en España se considera poco probable.

Respecto de la hemoglobina Lepore, dado que, el número de casos conocidos hasta el momento es muy reducido, no puede establecerse una localización exacta de su origen.

Se deduce, de los casos descritos hasta ahora, que se presenta, aunque no con mucha frecuencia, en países mediterráneos: Italia, Grecia, Turquía, Chipre,

etc. Esta sería la explicación del caso que se ha encontrado en España, ya que la Península ha sido invadida repetidas veces, a lo largo de su historia, por colonizadores mediterráneos. Al igual que para la hemoglobina C, una explicación basada en un origen mutacional para esta hemoglobina en España se considera poco probable.

VIII. RESUMEN Y CONCLUSIONES

RESUMEN

En el curso del presente trabajo, destinado a determinar la frecuencia de deficiencia en G6PD y talasemia en las provincias de: Cáceres, Badajoz, Guadalajara, Ciudad Real, Cuenca y Albacete, se han analizado un total de 4.240 individuos, cuya distribución por provincias figura en el capítulo VI, así como las frecuencias obtenidas tanto de deficiencia en G6PD (tabla nº 1) y de talasemia (tabla nº 4).

1º DEFICIT DE G6PD.-

Para la determinación del déficit de G6PD se han utilizado varios métodos: Método de Bautler, Test de Matulsky y Método de Brewer, Tarlow y Alving. Después de realizar pruebas con todos estos métodos

ya citados, se adoptó el de Brewer, Tarlow y Alving ya que resulta más cómodo para la determinación de muestras de población por no estar sujeto a las variaciones debidas a la temperatura, tiempo de incubación, composición de la solución, etc. Además tiene la ventaja de ser más económico en material y tiempo.

Se basa este método en el reconocimiento de la deficiencia del enzima G6PD utilizando para ello azul de metileno, sustancia capaz de acelerar la reducción de la metahemoglobina por activación del ciclo hexosa monofosfato de los hematies normales. Este efecto está disminuido en células con deficiencia en G6PD.

Los reactivos utilizados fueron: NO_2Na 0,18N; glucosa 0,28 N. y azul de metileno 0,0004 N. Como anticoagulante se ha utilizado heparina sódica o ACD.

Las frecuencias de deficiencia en G6PD obtenidas en estas provincias oscilan de 0,31% en Al-

bacete a 1,04% en Cáceres, con dos provincias, Cuenca y Guadalajara, en las que no se observó ningún varón deficiente (los resultados obtenidos figuran en el capítulo VI, tabla nº 1).

Las frecuencias de deficiencia en G6PD obtenidas han sido bajas, a pesar de lo cual se estima que la muestra de población examinada es lo suficientemente amplia para poder comprobar la distribución de la deficiencia en G6PD en las provincias examinadas.

2º TALASEMIA.-

Para el reconocimiento de la talasemia se hizo primeramente una valoración de la resistencia osmótica de los hematies, utilizando una solución de ClNa al 3,5 por 1.000. En segundo lugar, un examen microscópico de la morfología de los hematies en extensiones teñidas por el método GIEMSA.

Los casos que presentaron la resistencia osmótica y cuyo examen microscópico reveló la presencia de todas ó algunas anomalías morfológicas de la talasemia, fueron seleccionados para realizar una electroforesis de su hemoglobina.

Para la electroforesis se han utilizado bandas de acetato de celulosa gelatinizada "cellogel", y como tampones: glicina, veronal, tris-edta-bórico y fosfato.

Realizada la electroforesis y después de teñir, decolorar y transparentar las tiras, se procedió a la valoración de las fracciones hemoglobínicas obtenidas en el fotodensitómetro.

Seguiente estos procedimientos, fueron hallados 73 individuos con heterosis de la forma clásica de la beta-talasemia, de los cuales 43 presentaban aumento considerable de hemoglobina A_2 , y en los 30 restantes se observó aumento simultáneo de hemoglobina A_2 y de hemoglobina F.

Las frecuencias de talasemia obtenidas en estas provincias oscilan de 0,43% en Cuenca a 2,20% en Badajoz; parece ser, por tanto, una distribución bastante homogénea la observada en todas las muestras provinciales examinadas.

Para analizar el problema de la influencia selectiva que el paludismo hubiera podido ejercer en la distribución del rasgo talasémico y en la defi-

ciencia de G6PD, se han utilizado las estadísticas de la mortalidad del año 1919, anteriores a las alteraciones de las características de la endemia palúdica producidas por las medidas de control puestas en práctica por la "Comisión para el saneamiento de las comarcas palúdicas" creada en el año 1920.

3º HEMOGLOBINAS C Y LEPORE.-

Siguiendo los métodos de diagnóstico de la talasemia, fueron identificados dos casos de hemoglobina A-C en heterosigosis y un caso de una hemoglobina Lepore.

El valor obtenido para cada una de las fracciones hemoglobínicas ha sido:

Primer caso: Hemoglobina A 48,96%

Hemoglobina C 51,04%

Segundo caso: Hemoglobina A 56%

Hemoglobina C 44%

No se observan en estos dos casos ni hemoglobina A_2 ni hemoglobina F.

Tercer caso: Hemoglobina A 72,75%

Hemoglobina F 2,42%

Hemoglob. Lepore 19,26%

Hemoglobina A_2 7,87%

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos, podemos llegar a las siguientes conclusiones:

1ª DEFICIENCIA EN GÉNERO.-

- 1º** A pesar del elevado número de individuos examinados (4,240), se estima que las frecuencias de deficiencia obtenidas en todas las muestras provinciales examinadas son muy bajas.
- 2º** Las frecuencias de deficiencia obtenidas en las provincias españolas examinadas difieren mucho de las registradas en los países del Mediterráneo Central y Oriental y, por el contrario, son más semejantes a las observadas en el Mediterráneo Occidental.
- 3º** Debido al escaso número de individuos deficientes que se ha observado (frecuencias muy ba-

jas no es posible realizar un análisis de la probable heterogeneidad entre las provincias, ya que el cálculo de la χ^2 en estos casos no permite llegar a resultados definitivos.

40 Al agrupar, por un lado, las provincias de Cáceres y Badajoz (donde el paludismo ha sido más intenso) y por otro lado, las de Guadalajara, Ciudad Real, Cuenca y Albacete (donde el paludismo registró un grado mucho más bajo e incluso nulo), se observa que la proporción de individuos deficientes es superior en los primeros, lo cual apoyaría la hipótesis de que la deficiencia en G6PD ofrece una ventaja selectiva a sus portadores frente al paludismo.

50 El cálculo de la correspondiente χ^2 (que resulta de agrupar, por un lado las provincias extremeñas, y por otro, las de la Meseta) indica que esta diferencia es significativa. Pero de acuerdo con Cochran solo es lícito

el cálculo de la χ^2 cuando las frecuencias teóricas menores de 5 no superan el 20% del total, y, en este caso, son superiores.

- 6º Tampoco resuelve la incertidumbre el empleo del método más exacto ideado por Fisher para el tratamiento exacto de las tablas 2X2, ya que la probabilidad que se obtiene queda algo por encima del nivel del 5%.
- 7º Debe admitirse, por tanto, que la deficiencia de G6PD confiere una "cierta" ventaja selectiva a sus portadores frente al paludismo, pero que no ha sido solamente el paludismo el responsable de la presencia de la deficiencia en G6PD y se señalan como posibles fuerzas selectivas, que hayan podido intervenir en su manifestación, las características ambientales, raciales y alimentarias de la población.

2º TALASEMIA

- 1º Las frecuencias de talasemia obtenidas en las diferentes provincias examinadas son muy homogéneas. No existe una diferencia significativa entre las frecuencias observadas en las distintas provincias estudiadas.**
- 2º Las frecuencias obtenidas no corroboran la hipótesis de Haldane (1949) sobre la ventaja selectiva que la talasemia pudiera proporcionar a sus portadores frente al paludismo.**
- 3º La correlación entre la frecuencia de talasemia, por una parte, y la de la deficiencia en G6PD por otra, no parece muy clara, salvo en el caso de Cuenca, ciudad que presenta la frecuencia más baja de talasemia y en la que no se han observado varones deficientes en G6PD.**

48 Deben admitirse otros factores que, al margen del paludismo hayan podido influir en el mantenimiento del rasgo talasémico en la población. Tal sería, por ejemplo, la facilidad que poseen los individuos talasémicos para absorber el hierro y almacenarlo, o bien, el bajo nivel de colesteroína y lipoproteínas que existe en el suero de los talasémicos.

50 El aumento de hemoglobina A_2 observado en individuos talasémicos (bien con aumento aislado de esta hemoglobina, bien unido a un aumento de hemoglobina F) es estadísticamente significativo al compararlo con los valores correspondientes a una serie de individuos normales, como se detalla claramente en el capítulo VI.

3a HEMOGLOBINAS C Y LEPORE

El hallazgo de las hemoglobinas C y Lepore en España nos confirma, una vez más, el polimorfismo genético que caracteriza al pueblo español.

Al realizar el presente trabajo no se ha pretendido dar por terminado el estudio de estos dos caracteres (déficit de G6PD y Talasemia) como componentes del polimorfismo genético del pueblo español, sino más bien el presentarlo como punto de partida de nuevas investigaciones que, todavía, hemos de realizar si queremos llegar a un conocimiento total y definitivo de la variabilidad genética que caracteriza a la población española.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ADINOLFI, M., BERNINI, K., CARCASSI, U., LATTE, B.,
MOTULSKY, A.G. and SINISCALCO, M. (1960). "Indagi-
ni genetiche sulla predisposizione al favismo. Il
problema ed i metodi. Fluttuazioni stagionali dei
livelli di G6PD in Sardegna. Interazione con la ta-
lassemia al livello fisiologico". Acad. Nazionale
dei Lincei, Roma, 28 fasc. 5.
- 2.- AKSOY, M. and LEHMANN, H. (1957 b). "Sickle-cell
thalassaemia disease in South Turkey". Brit. Med.
J., 1, 734.
- 3.- ALLISON, A.C. (1961) "Genetic factors in resistan-
ce to malaria". Ann. New York Acad. Sci, 91, 710-729.
- 4.- ALLISON, A.C. (1963). "Malaria and Glucose-6-phos-
phate dehydrogenase deficiency". Nature, London,
197, 609.

- 5.- ALLISON, A.C. (1963). "Deficiency of erithrocites glucose-6-phosphate dehydrogenase in Greek populations". Ann. Hum. Genet. London, 26, 237.
- 6.- ANGELINI, V. (1937). "Primi risultati di ricerche ematologiche nei familiari di ammalatti di anemia Cooley". Minerva Med., 28, 331.
- 7.- ARENDS, T., y LAYRISSE, M. (1956). "Investigación de las hemoglobinas anormales en Venezuela. Primeros casos de hemoglobina C". IV Congreso Venezolano de Ciencias Médicas, II vol.
- 8.- ARENDS, T. (1961). "El problema de las hemoglobinopatias en Venezuela". Rev. Venez. Sanid. Asist., 26, nº 1.
- 9.- ARENDS, T., (1963). "Frecuencia de hemoglobinas anormales en poblaciones humanas sudamericanas". Acta Cient. Venez. Supl., 1, 46-57.
- 10.- BAGLIONI, C. (1962). "The fusion of two peptide Chains in hemoglobin Lepore and its interpretation as a genetic deletion". Proc. Nat. Acad. Sci., 48 1880.

- 11.- BANK, A. and MARKS, P., (1969). "Genetic control of hemoglobin synthesis and the thalassemia syndromes". Med. Clinics of North America, 54, 875-886.
- 12.- BANNERMAN, R.M., GRINSTEIN, M. y MOORE, C.V. (1959). "Haemoglobin synthesis in thalassemia in vitro studies". Brit.JHaematol., 5, 102.
- 13.- BANNERMAN, R.M. (1964). "Abnormalities of heme and pyrrole metabolism in thalassemia". Ann. New York Acad. Sci., 119, 503.
- 14.- BEAVEN, G.A. and WHITE, J.C. (1962). "Variability of Thalassemia red cell characters". Nature, 191, 448.
- 15.- BERNARD, J. et RUFFIE, J. (1966). "Hématologie géographique (Ecologie humaine; caractères héréditaires du sang)". Masson éd., Paris.
- 16.- BEUTLER, E., YEH, M. and FAIRBANKS, V.F., (1962). "The normal human female as a mosaic of X chromosome activity: Studies using the gene for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency as a marker". Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 48, 1-9-

- 17.- BEUTLER, E. (1969). "Genetic disorders of red cell metabolism". Med. Clin. North Amer., 53, 813-826.
- 18.- BIANCO, I. e MUZZOLINI, M. (1960). "Studio clinico, ematologico e genetico di 4 nuovi casi di malattia da Hb.H-microcitemia". Prog. Med. (Napoli), 15, 636.
- 19.- BOWDLER, A.J. and HUEHNS, E.R. (1963). "Thalassemia minor complicated by excessive iron storage". Brit. J. Haematol., 2, 13.
- 20.- BOWMAN, J.E. and WALKERED, D.G. (1961). "L'origine de la déficience en G6PD en Iran: Considérations théoriques". II Conférence Internationale de Génétique Humaine. Roma.
- 21.- BREWER, G.J., TARLOW, A.R. and ALVING, A.S. (1962). "The methemoglobin test for primaquine ytype sensitivity of erythrocytes". J. Amer. Med. Ass., 180, 368.
- 22.- BRUMPT, L., DE TRAVERSE, P., BRUMPT, V. COQUELET, M.L. (1957). "L'Hémoglobine E des Cambodgiens et ses conséquences". C.R. Acad. Sci., 244, 496.

- 23.- CABANNES, R. (1964). "Les types hémoglobiniques des populations de la partie occidentale du continent africain". Monographies du Centre d'Hémo-typologie du C.N.R.S. Hermann, Paris.
- 24.- CARSON, P.E., FLANAGAN, C.L., ICKES, C.E., and ALVING, A.S. (1956). "Enzymatic deficiency in primaquine sensitive erythrocytes". Science, 124, 484.
- 25.- CEPELLINI, R. (1959). "L'emoglobina normale lenta A₂: suoi rapporti con una frazione emoglobinica lenta B₂, e sua importanza per il riconoscimento di varianti talassemiche che compaiono nelle famiglie di portatore di talassemia media e di emoglobinopatia H". Acta Genet. Med. Roma, 8, suppl. 2, 47.
- 26.- COHEN, F., ZEULZER, W.W. and NEEL, J.V., and ROBINSON, A.R. (1959). "Multiple inherited erythrocyte anomalies in an American Negro family. Hereditary spherocytosis sickling and thalassemia. Blood, 14, 816.

- 27.- CORDEIRO FERREIRA, N. (1964). "Thalassemia. Heterogeneidade bioquímica de sua hemoglobina". Thèse, Lisbonne, 1964.
- 28.- CORDES, W. (1926). "Experiences with plasmochin in malaria". (Preliminary reports) in 15th Annual report, United Fruit Co. (Med. Dept.) 66-71.
- 29.- CRUZ HERNANDEZ, M. y ESTEBAN VELASCO, B. "la talasemia "maior" en España". Medicamenta, 37, 199-
- 30.- CHILDS, B. and ZINKHAM, W.H. (1959). "The genetics of primaquine sensitivity of the erythrocytes. In: Wolstenholme, G.E.W. and O'Connor, C.M. edit. Biochemistry of Human Genetics, 76-95.
- 31.- CHINI, V. and VALERI, C.M. (1949). "Mediterranean hemopathic syndromes". Blood, 4, 989.
- 32.- DACIE, J.V. (1967). "The haemolytic anaemias". J. & A. Churchill Ltd. London, 2ª edición.

- 33.- DAMASHEK, W. (1943). "Familial mediterranean target-oval cell syndromes". Amer. J. Med. Sci., 205, 643.
- 34.- DERN, R.J. (1954). "The haemolytic effect of primaquine: The natural course of the mechanism of its self-limited character". J. Lab. Clin. Med., 44, 171.
- 35.- DHERTE, P., LEHMANN, H. and VANDEPPITTE, J. (1959). "Haemoglobin P in a family in the Belgian Congo". Nature, 184, 1133-1135-
- 36.- DREYFUS, J.C., BESSIS, M. et KAPLAN, J.C. (1964). "L'existence de deux populations de globules rouges chez les femmes hétérozygotes pour le déficit en glucose-6-phosphate deshydrogénase. Démonstration par spectrophotométrie sur globules rouges examinés individuellement". C.R. Acad. Sci. Paris 258, Groupe 13, 3791.
- 37.- DREYFUS, J.C., MALEKNIA, N. et KAPLAN, J.C. (1964).

"Recherches sur le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase en France. A propos de 200 dosages". N. Rev. Fr. Hématol., 4, 791.

38.- DREYFUS, B. (1965). "Anémies hemolytiques héréditaires non sphérocytaires". Rev. Prat. (Paris), 15, 3049-3057.

39.- FESSAS, P. and STOMATOYANNOPULOS, G. (1962). "Absence of haemoglobin A₂ in an adult". Nature, 195, 1215.

40.- FESSAS, P., STOMATOYANNOPULOS, G. and KARAKLIS, A. (1962). Haemoglobin Pylos: Study of a hemoglobinopathy resembling thalassemia in the heterozygous and double heterozygous state". Blood, 19, 1.

41.- FESSAS, P. DOXIADIS, S.A. and VALAES, T. (1962). "Neonatal jaundice in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient infants". Brit. Med. J., 2, 1359-1361.

- 42.- FRICK, P. (1970). "Eliptocitosis congénita. Eliptocitosis y talasemia en la misma familia". *Revista Médica Suiza*, 31, 829-832 (1970).
- 43.- GARRIDO, M., DAMIANO, A., LOPEZ, A. y PEREZ GUZMAN, E. (1968). "El síndrome talasémico intermedio". *Revista Clínica Española*, 111, 547.
- 44.- GATTO, I. (1942). "Ricerche sui familiari di bambini affetti di malattia di Cooley". *Arch. Ital. Ped. e Puricult.*, 2, 128-
- 45.- GERALD, S. y DIAMOND, L.K. (1958). "A new hereditary hemoglobinopathy". *Blood*, 13, 835.
- 46.- GERALD, P.S., EFRON, M.L. and DIAMOND, L.K. (1961). "A human mutation (the Lepore hemoglobinopathy possibly involving two "cistrons". *Amer. J. Dis. Child.*, 102, 514.
- 47.- GILLES, H.M. and TAYLOR, B.G. (1961). "The existence of the glucose-6-phosphate dehydrogenase de-

- iciency trait in Nigeria and its clinical implications". Ann. Tropic. Med. Parasitol., 55, 64-69.
- 48.- GOUTTAS, A., FESSAS, P., TSEVERNIS, H, et KEPTERI, E. (1955). "Description d'une nouvelle variété d'anémie hémolytique congénitale". Sang, 26, 911.
- 49.- GROSS, R.T., HURWITZ, R.E. and MARKS, P.A. (1958). "An hereditary enzyme defect in erythrocyte metabolism: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency". J. Clinic. Invest., 37, 1176-1184.
- 50.- HARRIS, R. and GILLES, J.M. (1961). "Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the peoples of the Niger Delta". Ann. Hum. Genet., 25, 199-206.
- 51.- HARRIS, R. (1962). "Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase and malaria in Thailand". Lancet, 11, 1378.
- 52.- HOCKALD, (1952). "Status of primaquine: 4, Toxicity of primaquine in Negroes". J.A.M.A., 149, 1568.

- 53.- HUEHNS, E.R. and SHOOTER, E.M. (1961). "Polypeptide chains of haemoglobin A₂". *Nature*, 189, 918.
- 54.- INGRAM, V.M. and STRETTON, A.O.W. (1959). "Genetic basis of the thalassemia diseases". *Nature*, 184, 1903.
- 55.- INGRAM, V.M. (1964). "A molecular model for thalassemia". *Ann. New York Acad. Sci.*, 119, 485.
- 56.- ITANO, H.A. and NEEL, J.V. (1950). "A new inherited abnormality of human haemoglobin". *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 36: 613.
- 57.- ITANO, H.A. (1953). "Qualitative and quantitative control of adult haemoglobin synthesis. A multiple allele hypothesis". *Amer. J. Hum. Genet.*, 5, 34.
- 58.- JACOB, F. and MONOD, J. (1961). "Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins". *J. Molec. Biol.*, 3, 318.

- 59.- JASO, E., ALES, REINSLEIN, J.M. y PARDO URDAMPIL-
LLETA, J. (1942). "El primer caso español de a-
nemia de Cooley", Rev. Clin. Esp., 4, 425-429.
- 60.- KAPLAN, J.C., DREYFUS, J.C. et BESSIS, M. (1965).
"La structure en mosaïque du chromosome X chez
la femme". Nouv. Rev. Franç. Hematol., 5, 835-849.
- 61.- KIDSON, C. and GORMAN, J.G. (1962). "Mechanisms
underlying glucose-6-phosphate dehydrogenase de-
ficiency: Heterogeneity of response to stromal
activation in erythrocytes". Biochem. Biophys.
Res. Communic., 7, 268-281.
- 62.- KIDSON, C. and GORMAN, J.G. (1962). "A challenge
to the concept of selection by malaria in gluco-
cose-6-phosphate dehydrogenase deficiency". Nature,
London, 192, 49-51.
- 63.- KUNKEL, H.G. y WALLENIUS, G. (1955). "New haemo-
globin in normal adult blood". Science, 122, 288.

- 64.- LABIE, D. et ROSA, J. (1967). "Structure et génétique des hémoglobines Lepore". Nouvelle Revue Française d'Hématologie, 7, 683-690.
- 65.- LEHMANN, H., HUNTSMAN, R.G. (1966). "Man's haemoglobins". North Holland Publish. Co. - Amsterdam.
- 66.- LESOBRE, B., HOMBERG, J.C., SEGER, J., KOURISLKI, R. y PIERON, R. (1970).. "Deux observations de déficit en G6PD révélés au cours d'un traitement par l'acide para-amino-salicylique". Sem. Hôp. Paris, 1361-1368.
- 67.- LIE-INJO LUANG ENG, LIE HON GIE, and AGER, J.A.M. LEHMANN, H. (1962). "Alfa thalassemia as a cause of hidrops foetalis". Brit. J. Haemat., 8, 1.
- 68.- LUZZATO, L., USANGA, E.A. and REDDY, S. (1969). "Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient red cells: Resistance to infection by malarial parasites". Science, 164, 839-842.
- 69.- LYON, M.F. (1961). "Gene action in the X chromosome of the mouse (Mus musculus L.) Nature, 190, 372.

- 70.- MALANOS, B., FESSAS, P. and STOMATOYANNOPOULOS, G. (1962). "Types of thalassemia trait carriers as revealed by study of their incidence in Greece". Brit. J. Haematol., 6, 5.
- 71.- MARTI, H.R., y GRIEDER, H.R. (1970). "Talasemia beta-heterozigota sin aumento de hemoglobina A₂". Revista Médica Suiza, 27, 718-720.
- 72.- MARTINS DE MELO, J. e TRINCAO, (1970). "O primeiro foco de hemoglobina J parís em Portugal com estudo da sua transmissao". Portugaliae Acta Biologica, 10, 143-154.
- 73.- MC CURDY, P.R. and PEARSON, H.A. (1961). "Genetic study of a family possessing hemoglobins S and D, and classical thalassemia". Amer. J. Hum. Genet., 11, 390.
- 74.- MELO, J.M. (1966). "Comentarios acerca de la difusión de la hemoglobina S en Portugal y probablemente en la Península. Sangre, 11, 383-394.

- 75.- MODIANO, G., FILIPPI, G., BRUNELLI, F., PALMARINO, R., SANTOLAMAZA, C. e SINISCALCO, M., (1966). "Indagini sulla fosfatasi acide eritrocitaria in Sardegna". Atti. Ass. Genet. It. (Pavia), 11.
- 76.- MOTULSKY, A.G. and CAMPBELL-KRAUT, J.M. (1960). "Population genetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency of the red cells. In Proceedings and geographic variations in disease". Ed. by Blumberg, 158-180 (New York).
- 77.- MOTULSKY, A.G. (1962). "Controller genes in synthesis of human haemoglobin". Nature, 194, 607.
- 78.- MOTULSKY, A.G. (1964). "Hereditary red cell trait and malaria". Amer. J. Med. Hyg., 13, 147.
- 79.- NANCE, W.E. (1963). "Genetic control of haemoglobin synthesis". Science, 141, 123.
- 80.- NEEL, J.V. (1951). "The population genetics of two inherited blood dyscrasias in man". Cold. Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 15, 141-158.

- 81.- NEEL, J.V., ITANO, H.A. and LAWRENCE, J.S. (1953).
"Two cases of sickle-cell disease presumably due
to the combination of the genes for thalassemia
and sickle-cell haemoglobin". Blood, 8, 434.
- 82.- ORSINI, A. y BOYER, G. (1961). "La talasemia a Mar-
siglia ed in Francia". G.S. su "Il problema socia-
le della microcitemia e del morbo di Cooley". Vol.
1, 141
- 83.- PAULING, L., ITANO, H.A., SINGER, S.J. y WELLS, I.C.
(1949). "Sickle-cell anemia, a molecular disease".
Science, 110, 543.
- 84.- PEARSON, H.A., GERALD, P.S. and DIAMOND, L.K. (1959).
"Thalassemia intermedia due to interaction of Le-
pore trait with thalassemia trait". Amer. J. Dis.
Child., 97, 464.
- 85.- PELLICER, A. (1967 a). "Frecuencia de genes tala-
sémicos en una muestra de las provincias de Jaén,
y Toledo". Rev. Diag. Biol., 16, 331.

- 86.- PELLICER, A. (1966). "Genética de la talasemia".
Medicina Tropical.
- 87.- PELLICER, A. (1967 b). "Frequency of thalassemia
in a sample of the Spanish population". Amer. J.
Hum. Genet., 19, 695.
- 88.- PELLICER, A. y CASADO, A. (1967). "Estudio sobre
la frecuencia de Deficiencia en G6PD en la pobla-
ción de Madrid". Portugaliae Acta Biol., 10, 181.
- 89.- PELLICER, A. (1969). "Frequency of thalassemia, G6PD
deficiency and sickle-cell trait in the province
of Huelva". Amer. J. Hum. Genet., 21, 1969.
90. PITALUGA, G. (1923). "Enfermedades de los países cá-
lidos y parasitología general". Espasa Calpe. Madrid.
- 91.- PORTER, I.H., SCHULZE, J, and MC CUSICK, V.A. (1962)
"Genetical linkage between the loci for G6PD de-
ficiency and colour-blindness in American Negroes".
Ann. Hum. Genet., 26, 107-122.

- 92.- PORTER, I.H. (1968). "Variants of glucose-6-phosphate dehydrogenase". Ann. Intern. Med., 68, 250-252.
- 93.- PORTIER, A., CABANNES, R. and DUZER, A. "The frequency and distribution of abnormal haemoglobin conditions in Algeria". Symp. C.I.O.M.S. on Abnormal haemoglobins. Istanbul. Oxford Blackweell Edit., 279-289.
- 94.- POWELL, W.N., RODARTE, J.G. and NEEL, J.V. (1960). "The occurrence in a family of Sicilian ancestry of the traits for both sickling and thalassemia". Blood, 10, 887.
- 95.- RHINESMITH, H.S., SCHROEDER, W.A. and PAULING, L. (1957). "A quantitative study of the hydrolisis of human DPNglobin; the number and kind of the polypeptides chains in haemoglobin A". J. Amer. Chem. Soc., 79, 4682.
- 96.- RIGAS, D.A., KOLER, R.D. and OSGOOD, E.E. (1955). New haemoglobin possessing a higher electrophore-

tic mobility than normal adult haemoglobin". Science, 121, 327.

97.- RIGAS, D.A., KOLER, R.D. and OSGOOD, E.E. (1956).
"Haemoglobin H". J. Lab. Clin. Med., 47, 51.

98.- ROZMAN, C., CAPDEVILA, J., WOESSNER, S. y MARTI, I.
(1966). Hemoglobinopatía H (forma de alfa-talase-
mia) en una familia española". Revista Clínica Es-
pañola, 101, 373-377.

99.- SANSONE, G., PIGA, A.M. e SEGNI, G. (1958). "Il
favismo". Minerva Medica, Torino, 1958.

100.- SCHWARTZ, H.C., SPAET, T.H., ZEULZER, W.W., NEEL,
J.V., ROBINSON, A.R. and KAUFMAN, S.F. (1957).
"Combinations of haemoglobin S and thalassemia oc-
curring in one family". Blood, 12, 238.

101.- SHEBA, C., SZEINBERG, A., ADAM, A. y RAMOT, B.
(1961). "Répartition de la déficience en G6PD
parmi différentes Communautés d'Israel". IIème
Conférence Internationale de Génétique Humaine,
Rome 1961.

- 102.- SILVESTRONI, E. e BIANCO, I. (1944). "Microdrepanocitemia in un soggetto di razza bianca". *Boll-Med. Roma*, 70, 347.
- 103.- SILVESTRONI, E. (1946). "Una anomalia hematológica particular, la microcitemia". Traducción: *Laboratorio*, 2, 531.
- 104.- SILVESTRONI, E. and BIANCO, I. (1952). "Genetic aspects of sickle-cell anemia and microdrepanocytic disease". *Blood*, 7, 429.
- 105.- SINGER, K., CHERNOFF, A.I. and SINGER, I. (1951). "Studies on abnormal haemoglobins. I. Their demonstration in sickle-cell anemia and other hematological disorders by means of alkali denaturation". *Blood*, 6, 413.
- 106.- SINISCALCO, M., BERNINI, L., LATTE, B. and MOTULSKY, A.G. (1961). "Favism and thalassemia in Sardinia and their relationship to malaria". *Nature*, 190, 1179.

- 107.- SINISCALCO, M. (1963). "Field study on favism and thalassemia in Sardinia.I. The genetics of migrant and isolate population". E. Goldsmith (Ed.) Williams and Wilkins. Baltimore. Pg. 72.
- 108.-SUADEAN, C. (1965). "Répartition des déficiences en G6PD dans les populations algériennes". Thèse Marseille. Faculté de Médecine.
- 109.- SURINYACH, R. (1952). "El síndrome de hemolisis alimentaria y su distribución en España". *Medicamenta*, 17, 161.
- 110.- STOMATOYANNOPOULOS, G. and FESSAS, P. (1964). "Thalassemia G6PD deficiency and malarial endemicity in Greece". *Brit. Med. J.*, 1, 875.
- 111.- TALEB, N. and RUFFIE, J. (1965). "Etude hémotypologique des ethnies libanaises". Monographies du Centre d'Hémotypologie du Centre National de la Recherche Scientifique. Hermann. Paris.

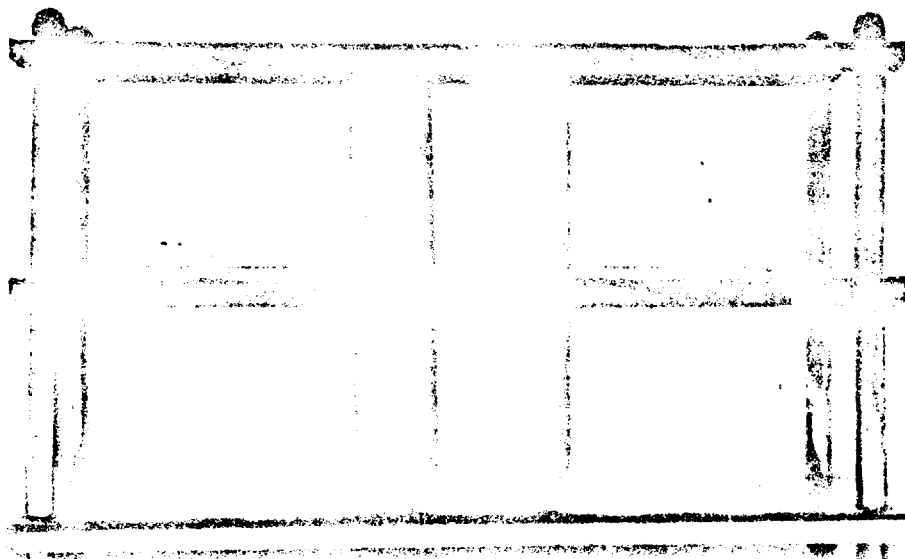
- 112.- VECCHIO, F. (1948). "Sulla resistenza dell'emoglobina all denaturazione alcalina negli am malatti di anemia di Cooley e nei loco familiari". Prog. Med., Nápoles, 4, 201.
- 113.- VELLA, F., WELLS, R.H., AGER, J.A.M. and LEHMANN, H. (1958). "A hemoglobineopathy involving hemoglobin H and a new (Q) haemoglobin". Brit. Med. J. 1, 752.
- 114.- WEATHERALL, D.J. (1963). "Abnormal haemoglobins in the neonatal period and their relationships to thalassemia". Brit. Med. J. Haematology, 2, 265.
- 115.- WEATHERALL, D.J. (1964). "Biochemical fenotypes of thalassemia in the American Negro population". Ann. New York Acad. Sci., 119, 450.
- 116.- WHEELER, J.T. and KREVANS, J.R. (1961). "The homozygous state of persistent fetal hemoglobin and the interaction of persistent fetal hemoglobin with thalassemia". Bull. Johns Hopkins Hop., 110, 271.

- 117.- WOESSNER, S., (1968). "Favismo. A propósito de tres casos". Trabajos de Hematología y Hemoterapia, 1, 181-184.
- 118.- YOSHIDA, A. (1967). "Human glucose-6-phosphate dehydrogenase; purification and characterization of Negro type variant (A+) and comparison with normal enzyme (B+). Biochem. Genet., 1, 81.
- 119.- YOSHIDA, A. (1968). "Subit structure of human glucose-6-phosphate dehydrogenase and its genetic implication". Biochem. Genet., 2, 237.
- 120.- ZAINO, E.C. (1964). "Paleontologic thalassemia". Ann. New York. Acad. Sci., 119, 402.
- 121.- ZANNOS-MARIOLES, L. and KATTAMIS, C. (1961). "G6PD deficiency in Greece". Blood, 18, 34-47.
- 122.- ZUELZER, W.W. and KAPLAN, E. (1954). "Thalassemia-haemoglobin C disease: New syndrome presumably due to the combination of the genes for thalassemia

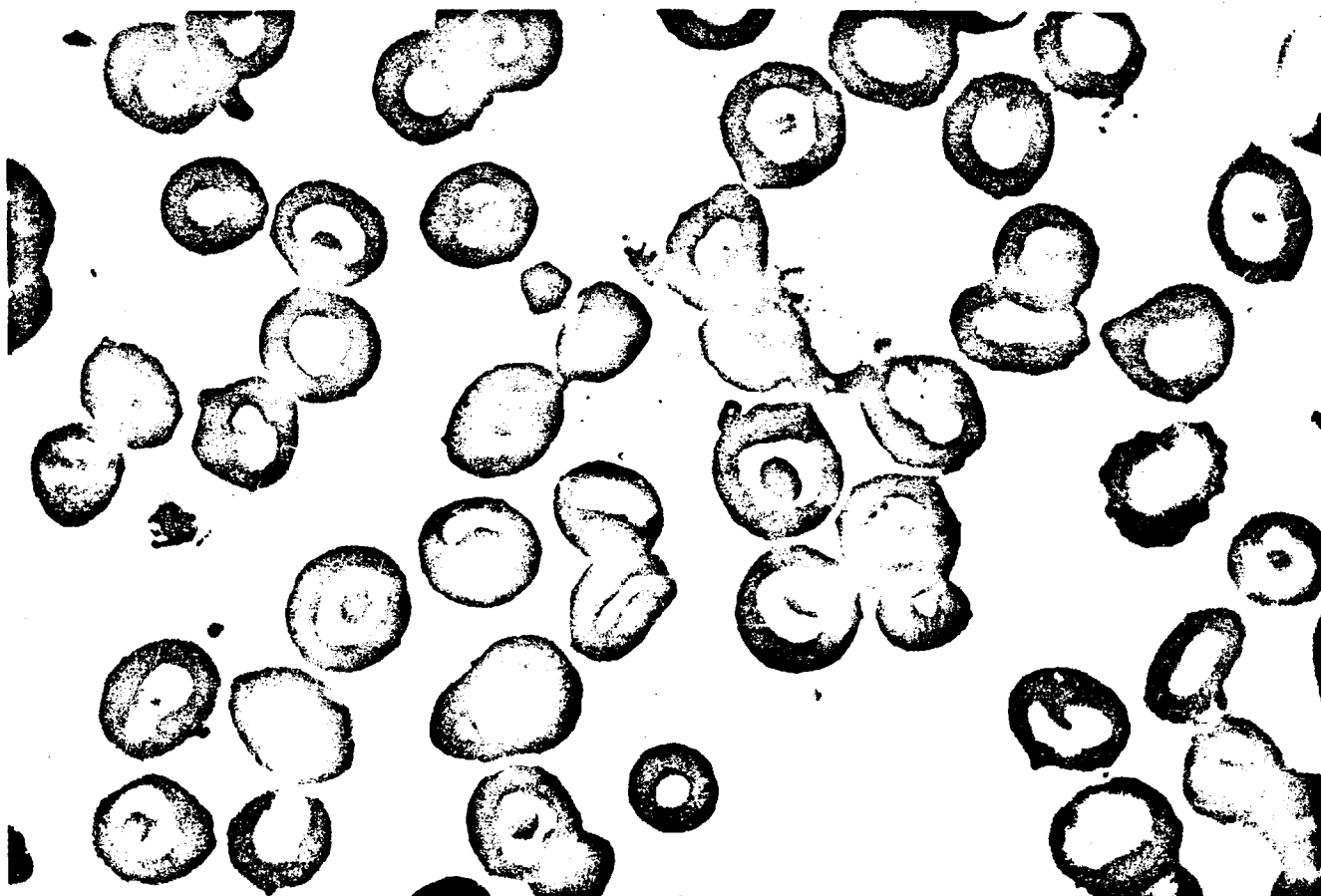
and haemoglobin C". Blood, 2, 1947.

- 123.- ZUELLER, W.W., Robinson, A.R. and BOOKER, C.R.
(1961). "Reciprocal relations of haemoglobin A₂
and F in beta-chain thalassemia, a key to the
genetic control of haemoglobin F". Blood, 17, 393.
- 124.- FARRERAS VALENTI, P. (1967). "Medicina interna".
Tomo II. Editorial Marin S.A.
- 125.- PEDRO-PONS, A (1969). "Patologia y clinica médicas".
Tomo V. Editorial Salvat Barcelona.

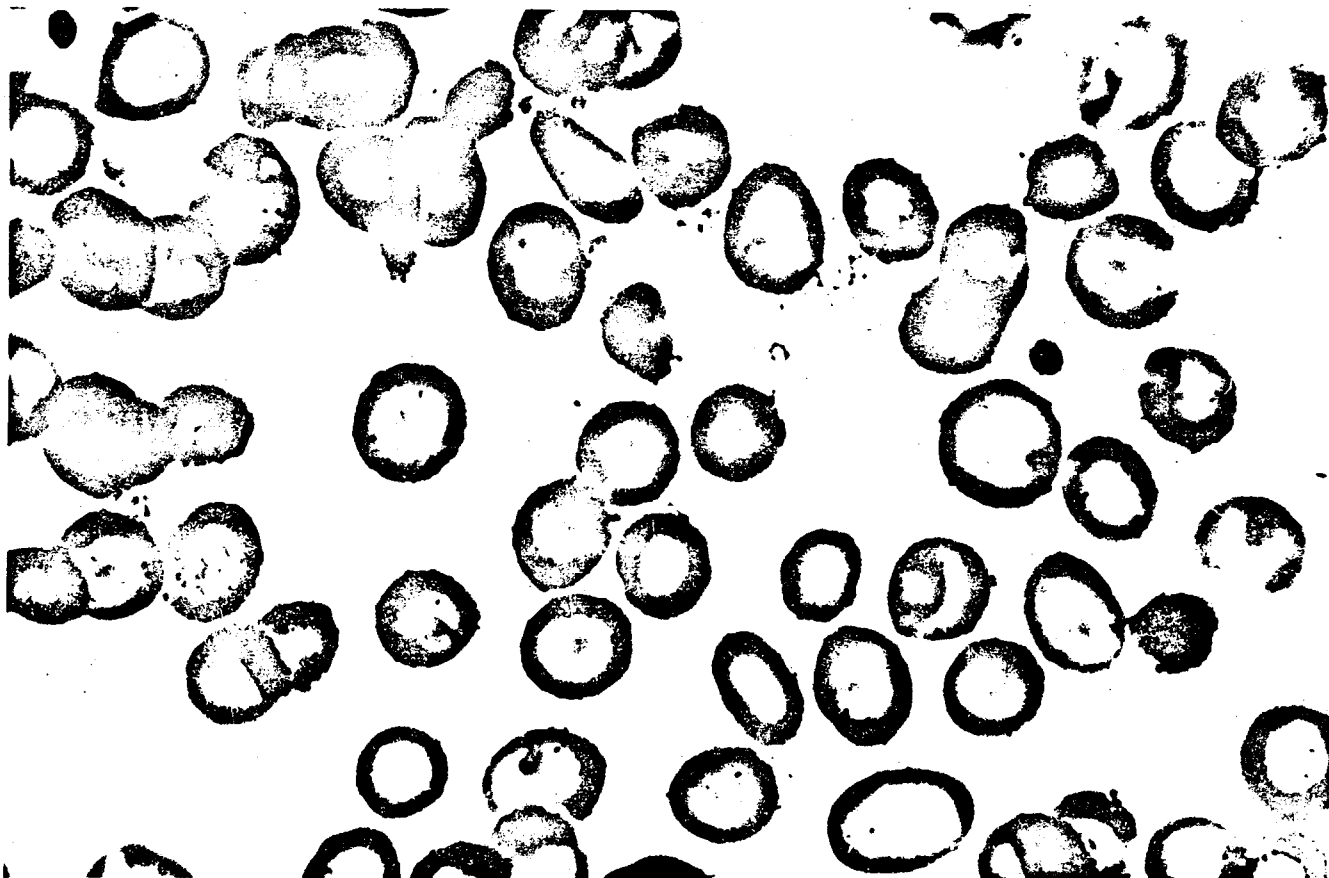
FOTOGRAFIAS



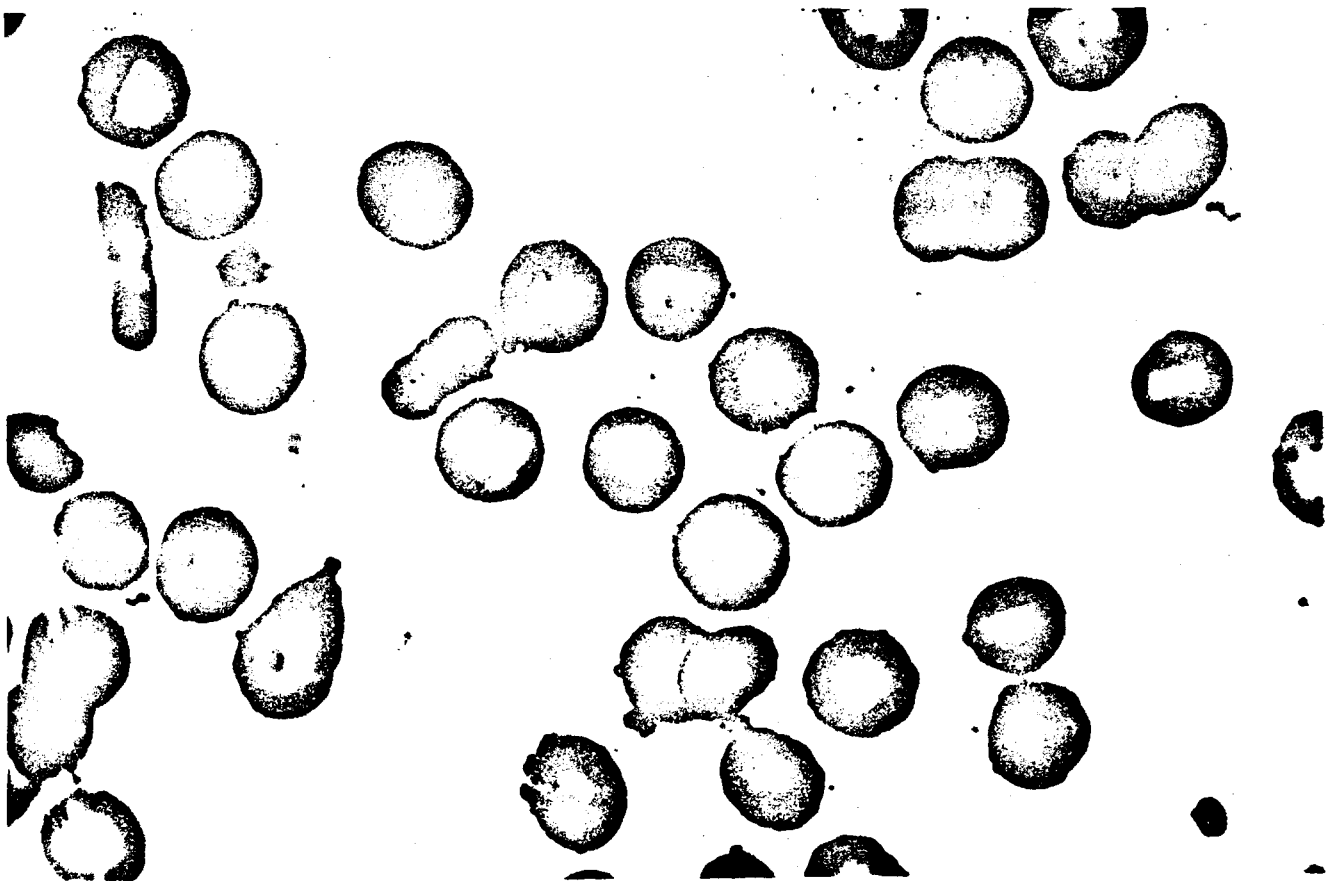
FOTOGRAFIA nº 1.- Prueba para la determinación de la deficiencia de G6PD en los hematies por medio de la reducción de la metahemoglobina (Método de BREWER, TARLOW Y ALVING). A la izquierda tubo de referencia normal a la derecha tubo de referencia positivo (deficiente en G6PD).



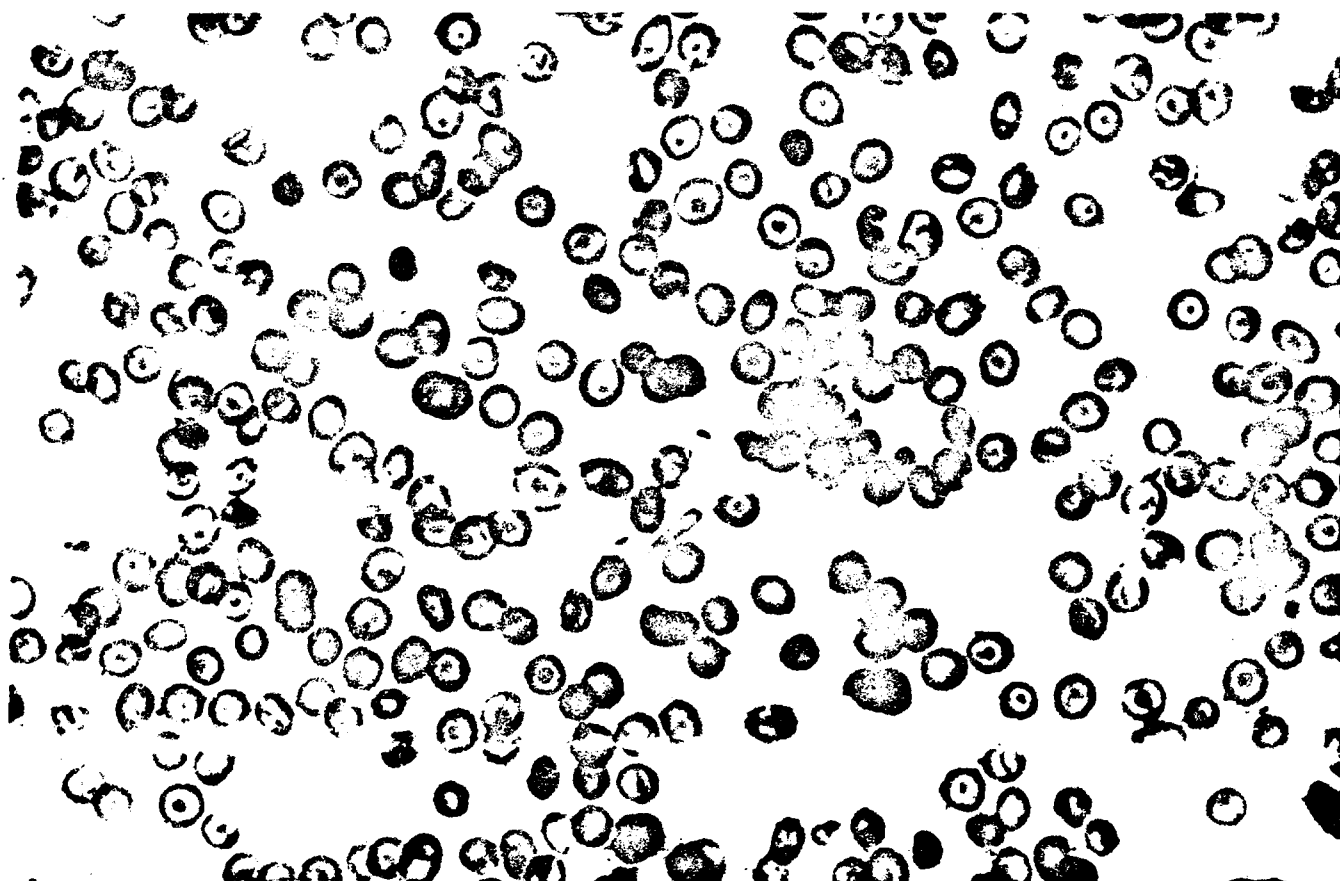
FOTOGRAFIA nº 2.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 4, provincia de Cáceres. Se observa hipocromia, anisocitosis, poiquilocitosis y presencia de dianocitos.



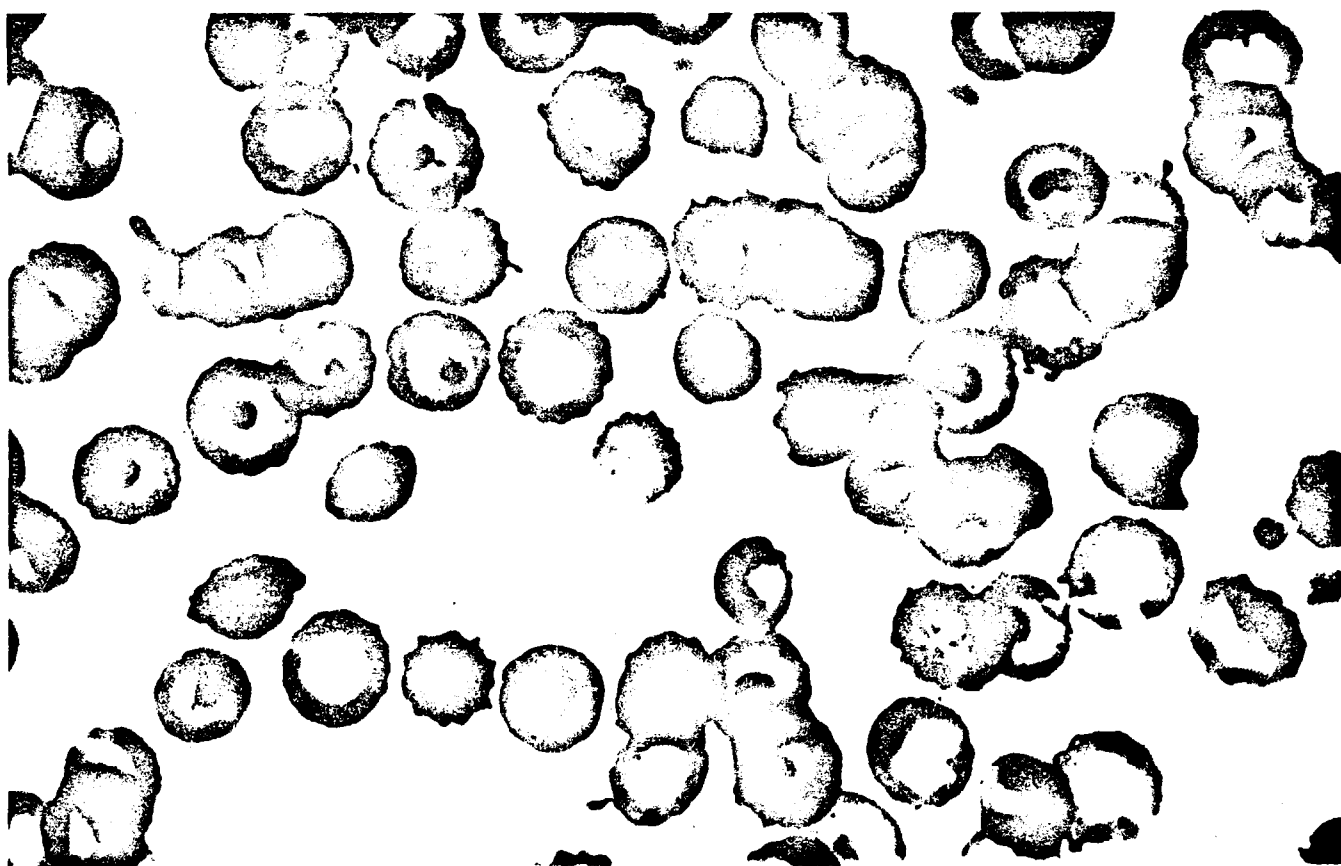
FOTOGRAFIA nº 3.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 7, provincia de Badajoz. Se observa una intensa anisocitosis, hipocromia y dianocitosis.



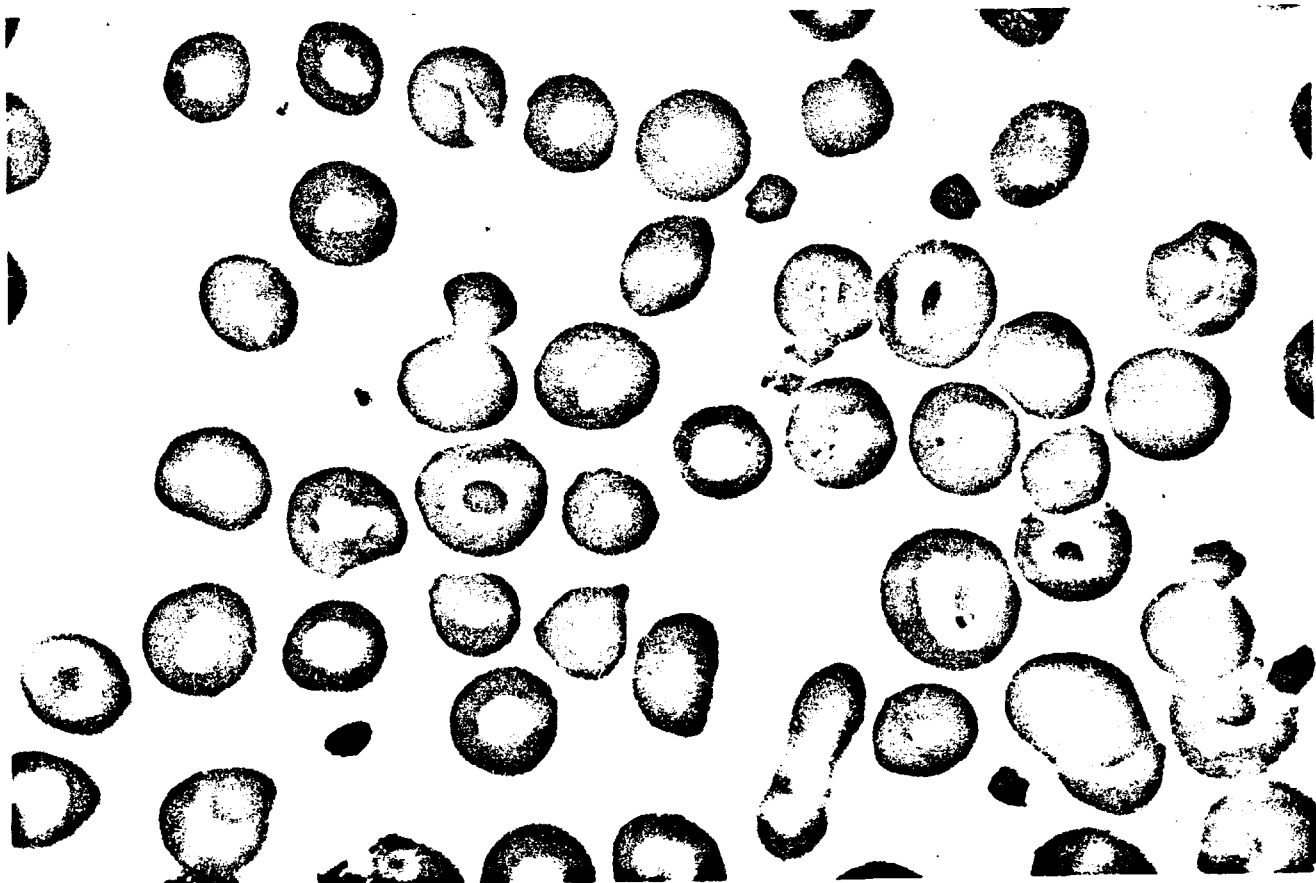
FOTOGRAFIA nº 4.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 11, provincia de Ciudad Real. Poiquilocitosis (se observan formas muy irregulares: de pera, bizcocho.. etc), anisocitosis y dianocitos.



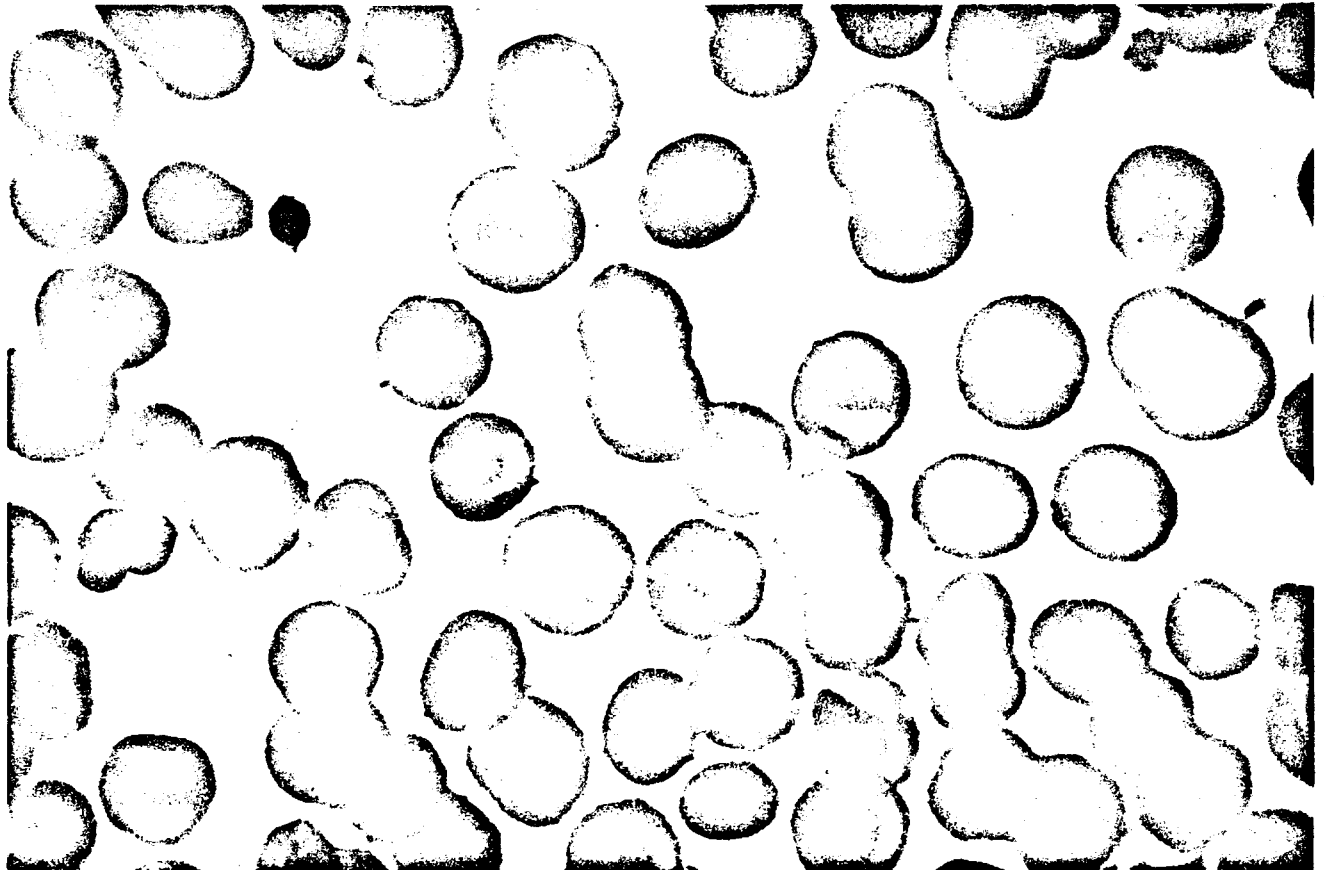
FOTOGRAFIA nº 5.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 15, provincia de Guadalajara. Lo más llamativo es la enorme cantidad de dianocitos que se observan, unido a una notable hipocromia y algunas formas irregulares.



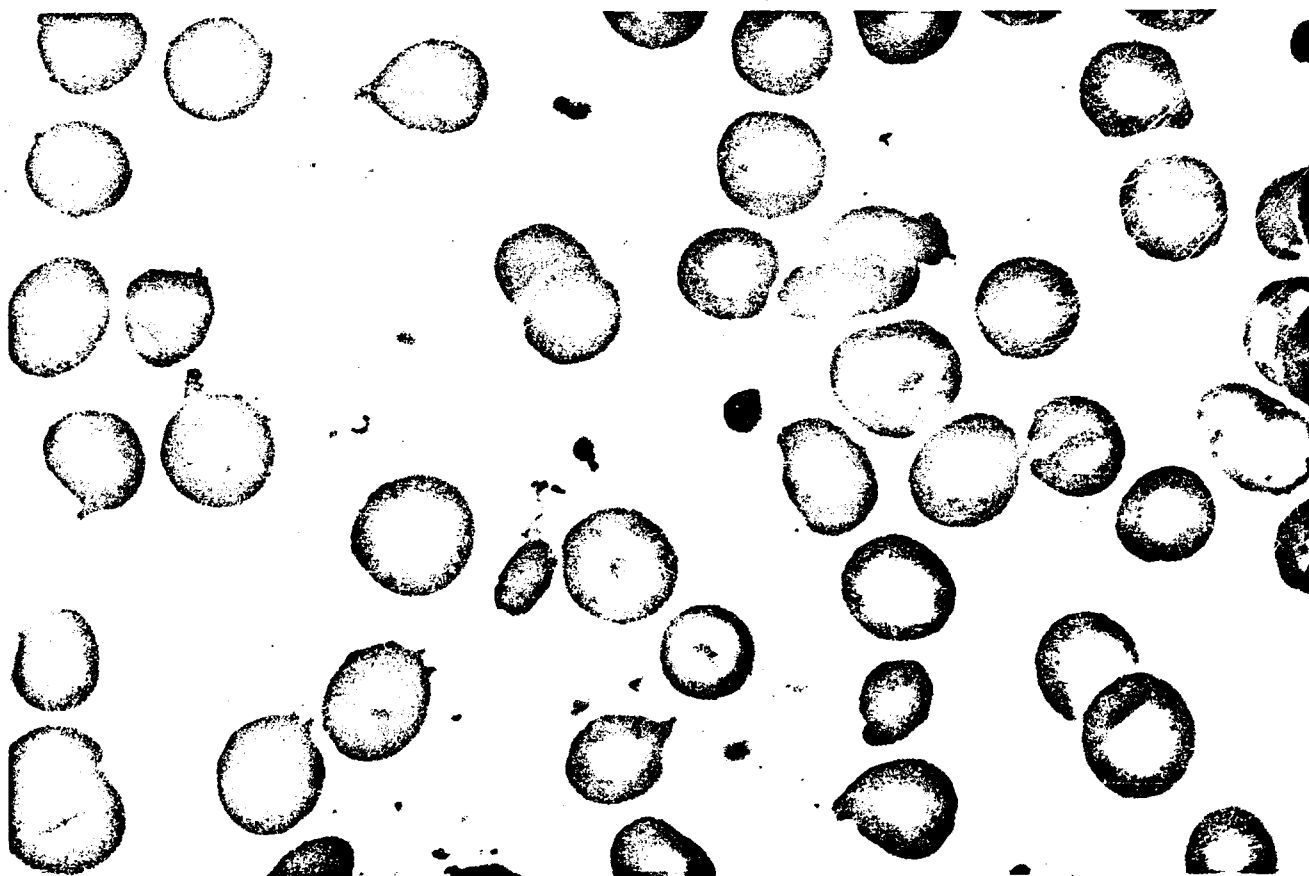
FOTOGRAFIA nº 6.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 23, provincia de Guadalajara. Es característico la presencia de dianocitos, la crenación de las células así como una ligera anisocitosis y poikilocitosis.



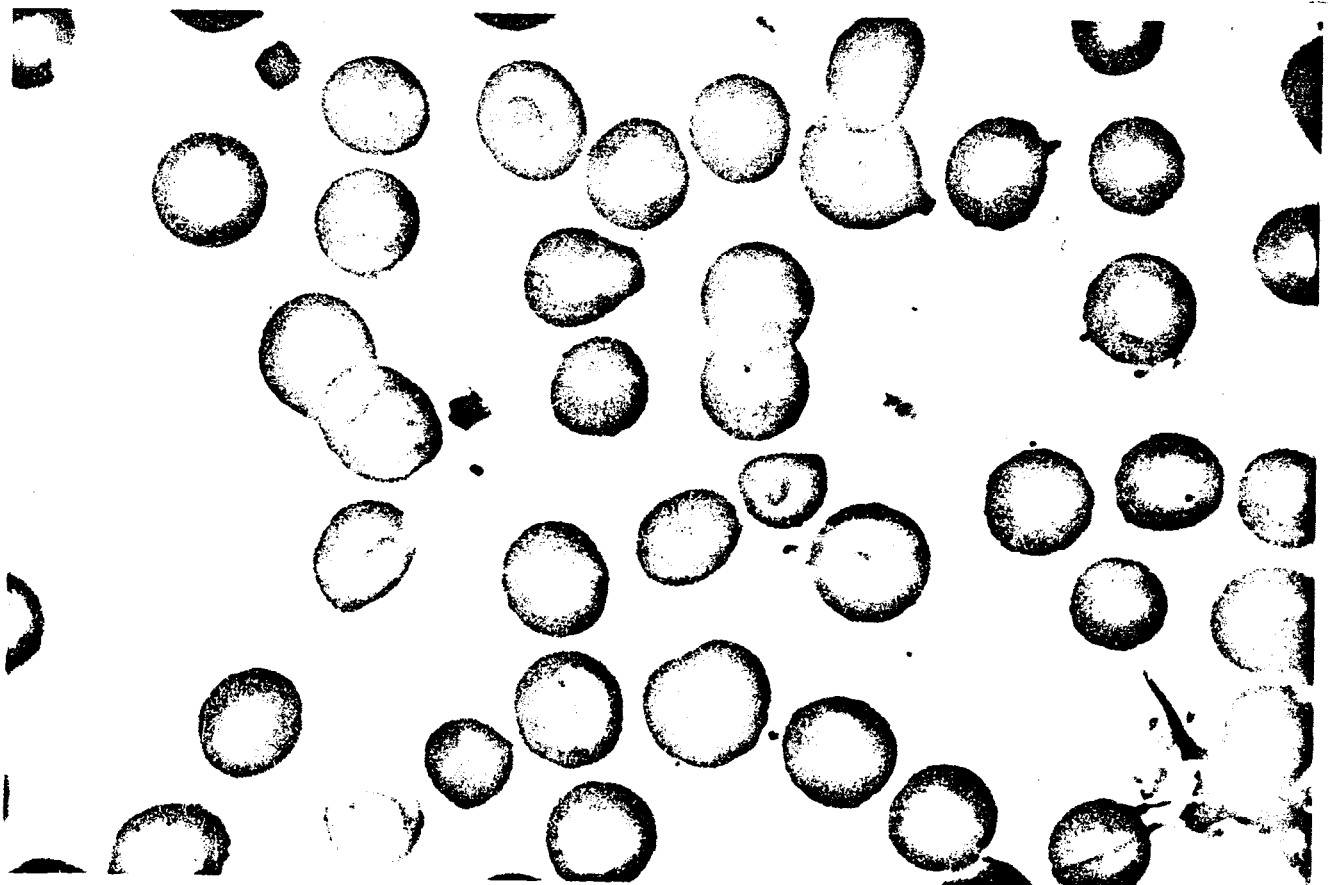
FOTOGRAFIA nº 7.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 34, provincia de Badajoz. Es característica la hipocromia, poiquilocitosis, anisocitosis y presencia de diano-
citos.



FOTOGRAFIA nº 8.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 39, provincia de Cáceres. El rasgo más característico es la presencia de dianocitos.



FOTOGRAFIA nº 9.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 43, provincia de Badajoz. Anisocitosis muy marcada, se observan algunos microcitos y dianocitos.



FOTOGRAFIA nº 10.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 47, provincia de Ciudad Real. Irregularidad de forma y tamaño, presencia de dianocitos.

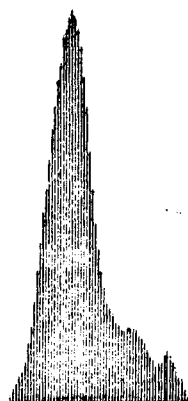
ALBACETE

Hb.A 85,80%

Hb.F 9,68%

Hb.A₂ 4,52%

ANODO

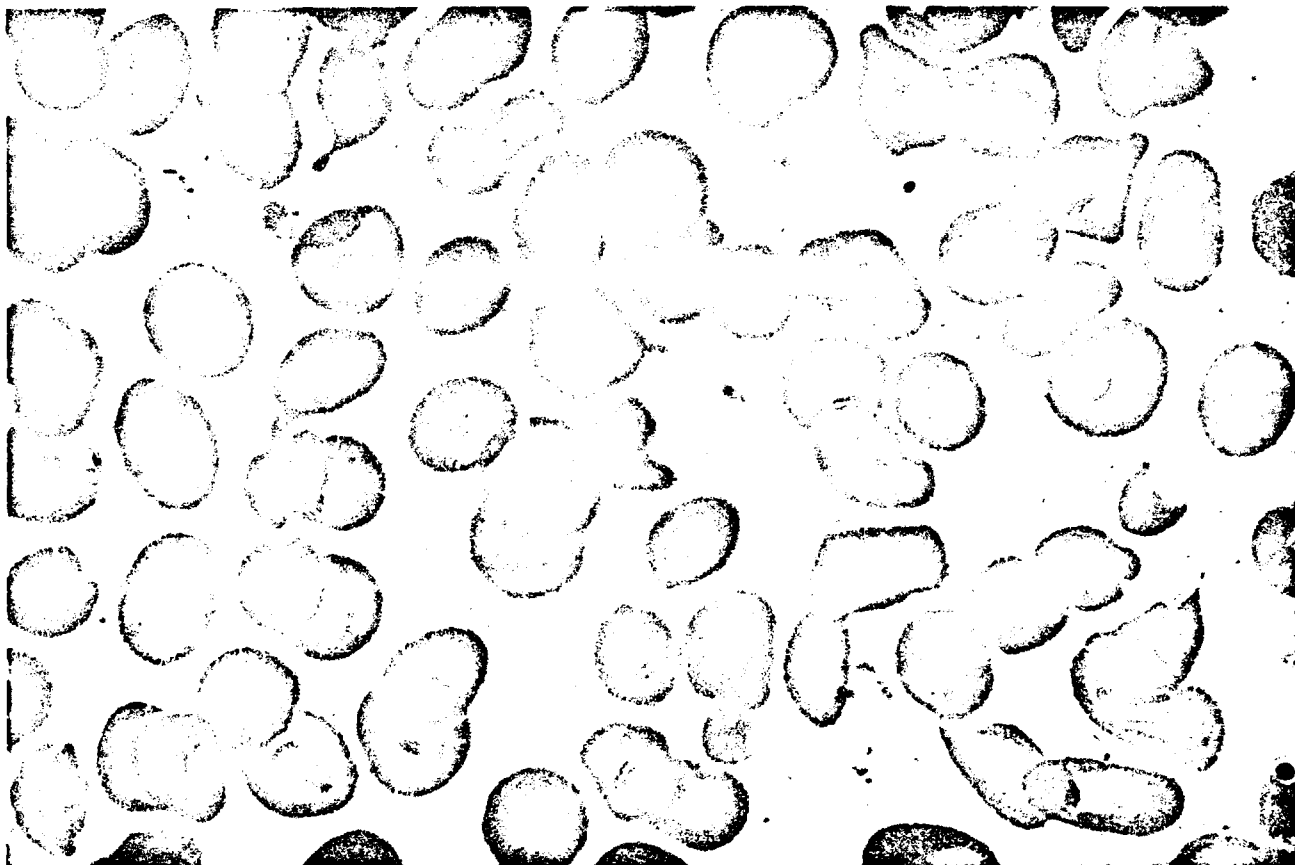


ORIGEN

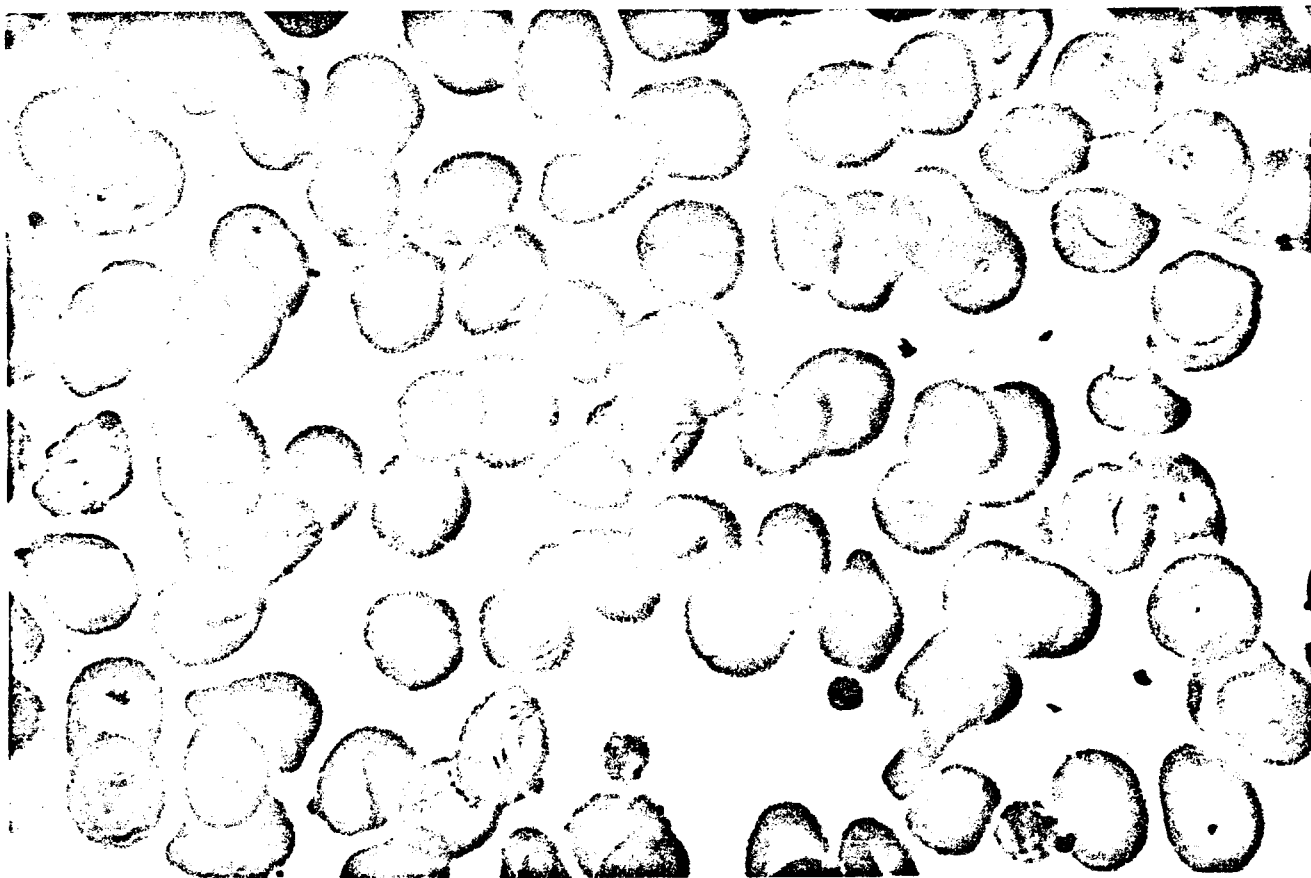
Hb. A F A₂



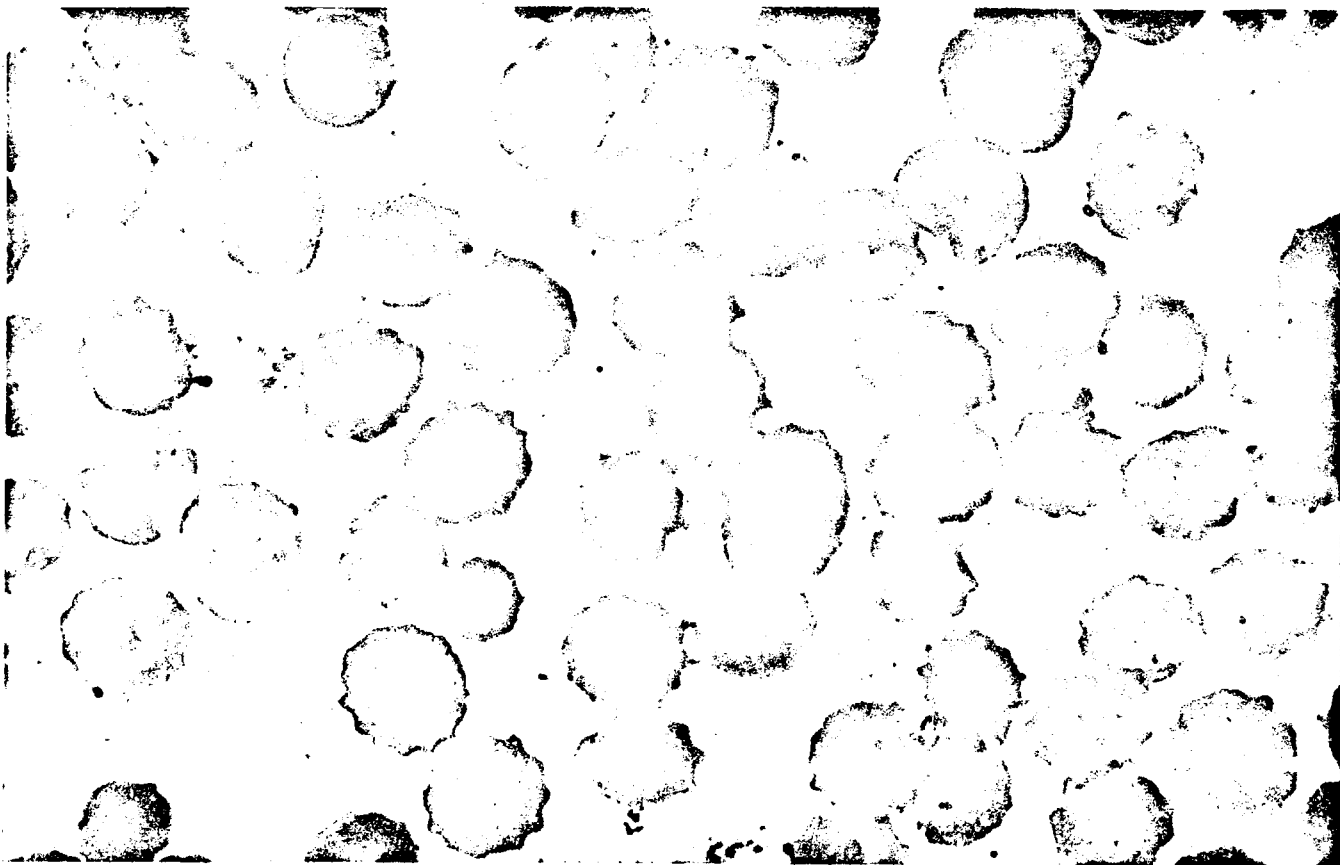
FOTOGRAFIA nº 11.- Fotografía de la banda electroforética y curva de extinción de la hemoglobina de un individuo natural de la provincia de Albacete, caso nº 51. Se observa un aumento considerable de la Hb. F (9,68%), unido a un ligero aumento de la Hb.A₂ (4,52%)



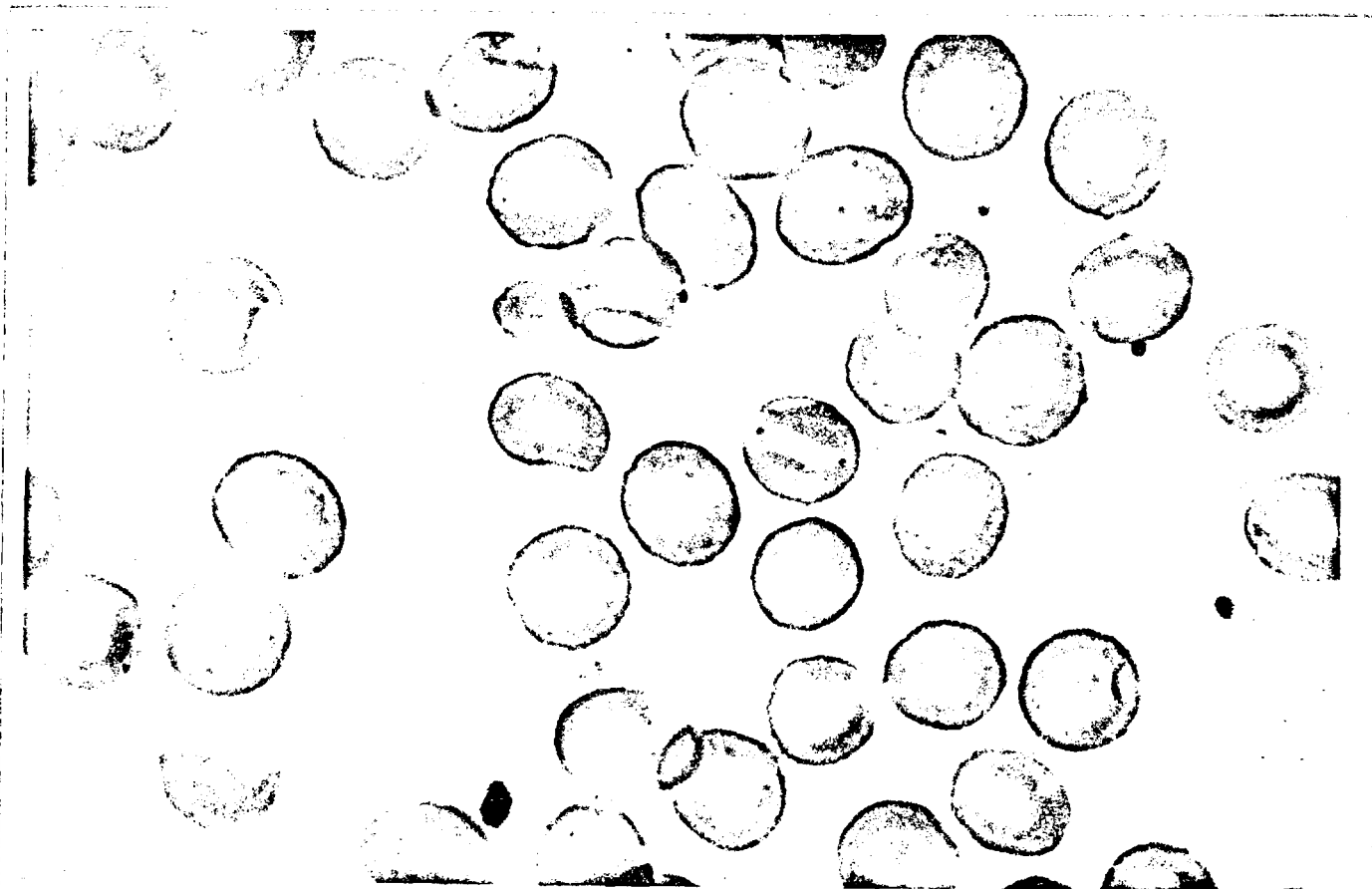
FOTOGRAFIA nº 12.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 51, provincia de Albacete. Se observa anisocitosis, poiquilocitosis y algunas células en diana.



FOTOGRAFIA nº 13.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 51, provincia de Albacete. Se observa ligera hipocromia, poiquilocitosis y algunos dianocitos.



FOTOGRAFIA nº 14.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 57, provincia de Cuenca. Se observa crenación en los hematíes, anisocitosis y algunos dianocitos.



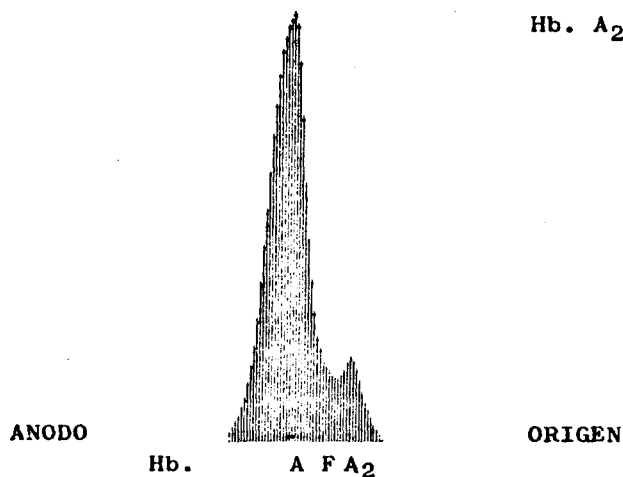
FOTOGRAFIA nº 15.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 63, provincia de Ciudad Real. Lo más característico es la presencia de estomatocitos unido a una ligera hipocromia, anisocitosis y dianocitosis.

CACERES

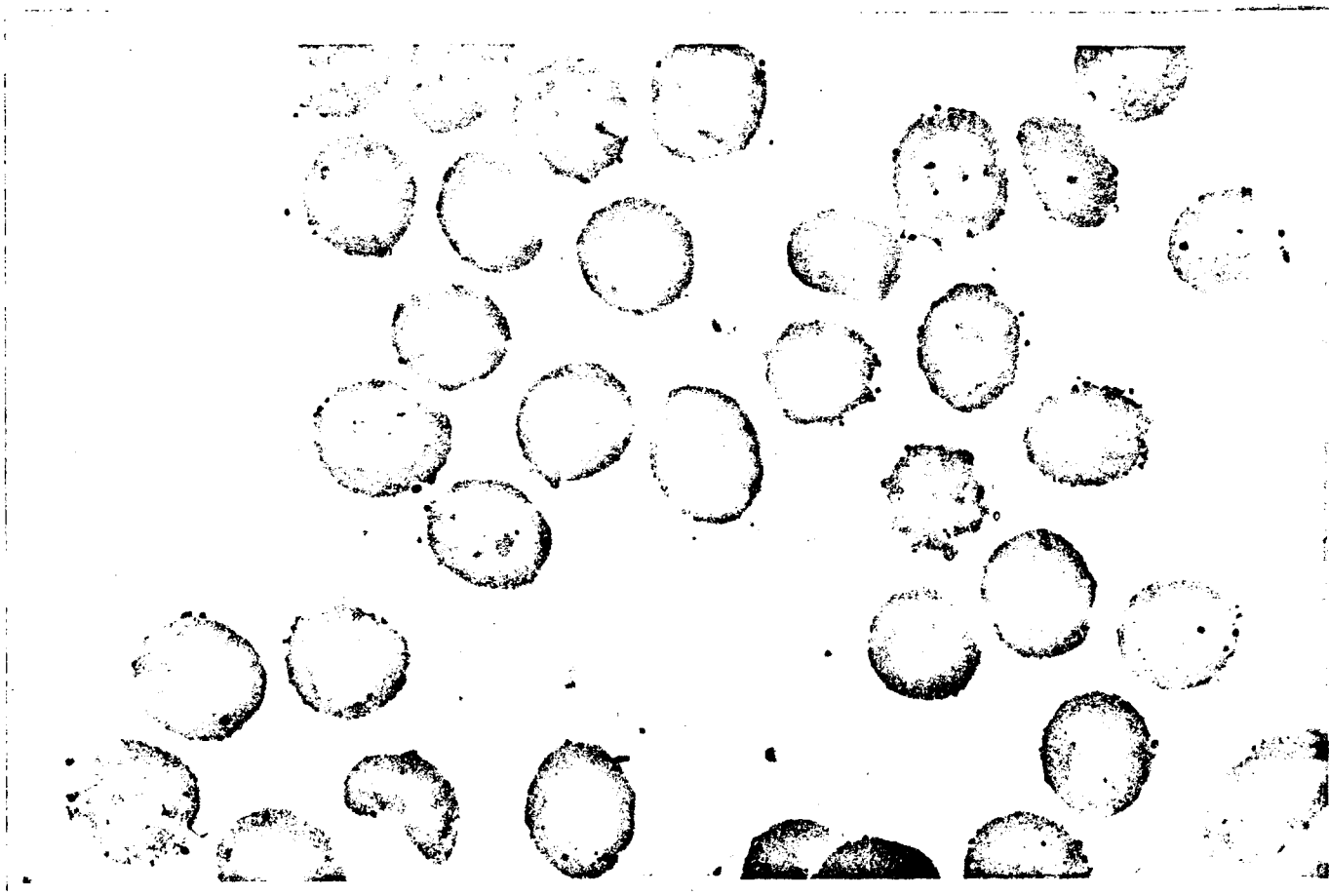
Hb. A 90,00 %

Hb. F 0,30 %

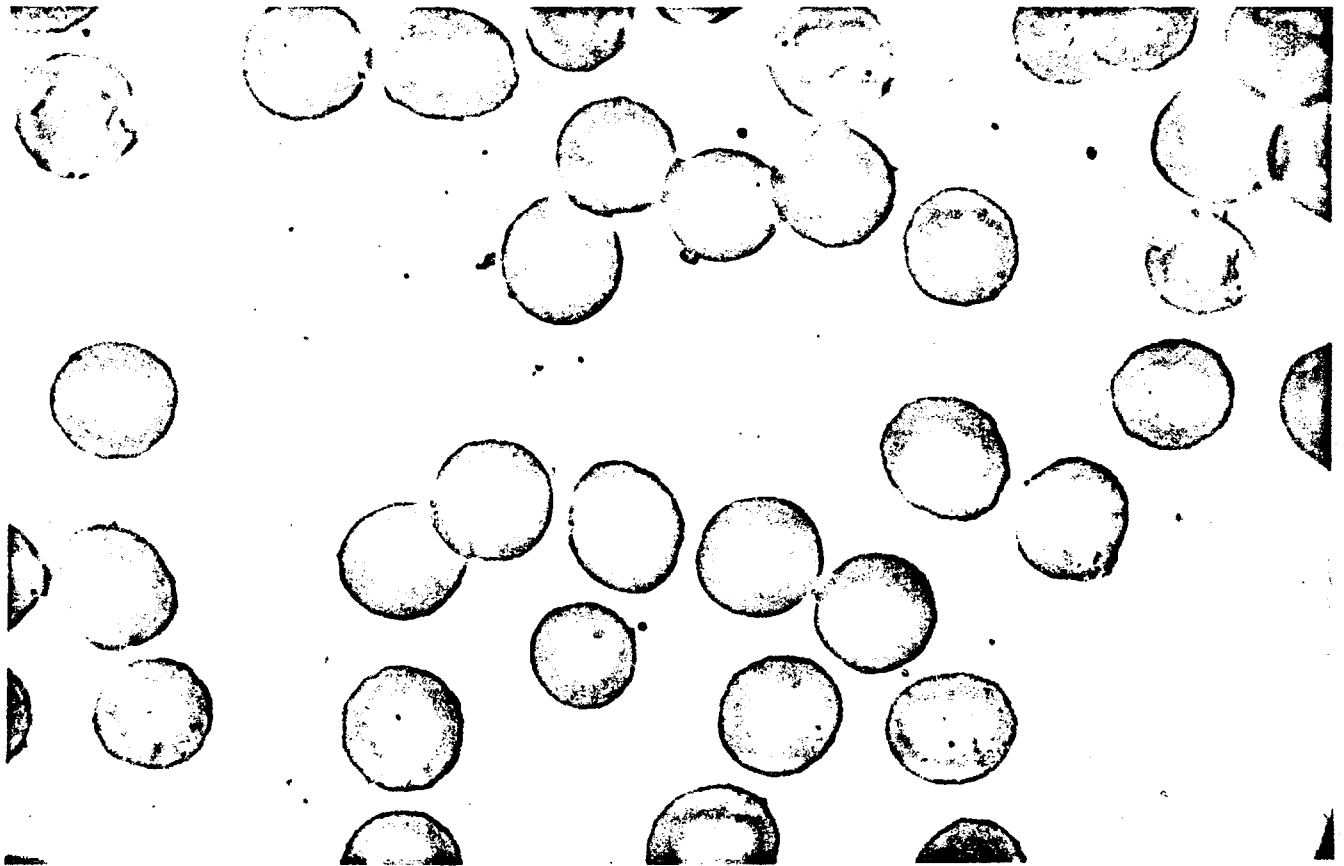
Hb. A₂ 9,70 %



FOTOGRAFIA nº 16.- Fotografía de la banda electroforética y curva de extinción de la hemoglobina de un individuo natural de Cáceres, caso nº 67. Se observa un aumento considerable de la hemoglobina A₂ (9,70%).



FOTOGRAFIA nº 17.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 67, provincia de Cáceres. Se observa hipocromia, ligera aniso-poi-
locitosis y algunos dianocitos.

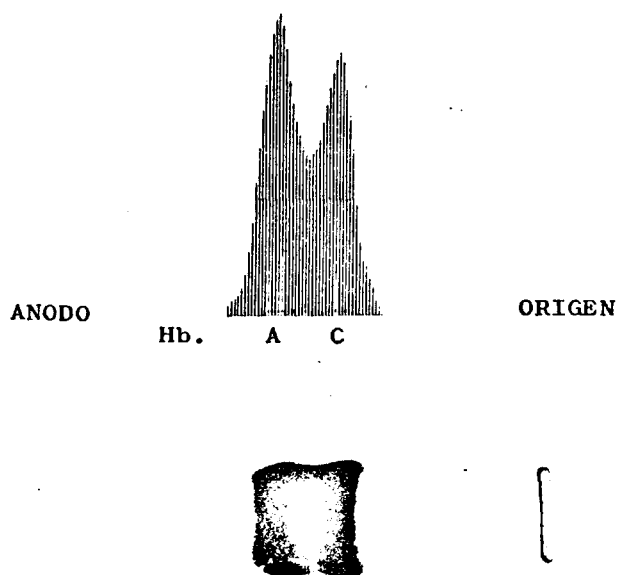


FOTOGRAFIA nº 18.- Microfotografía de una extensión de sangre. Caso nº 71, provincia de Guadalajara. Se observa hipocromia y presencia de dianocitos.

BADAJOS

Hb. A 56 %

Hb. C 44 %



FOTOGRAFIA nº 19.- Fotografía de la banda electroforética y curva de extinción de la hemoglobina de un individuo natural de Malpartida de la Serena (Badajoz). Se observan dos fracciones hemoglobínicas correspondientes a las hemoglobinas A (56%) y C (44%).

Buffer Glycine, pH 8.6

Father

Mother

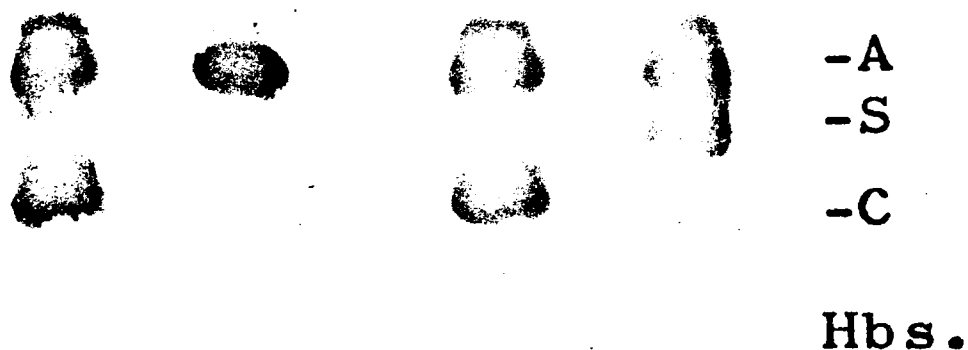
Son



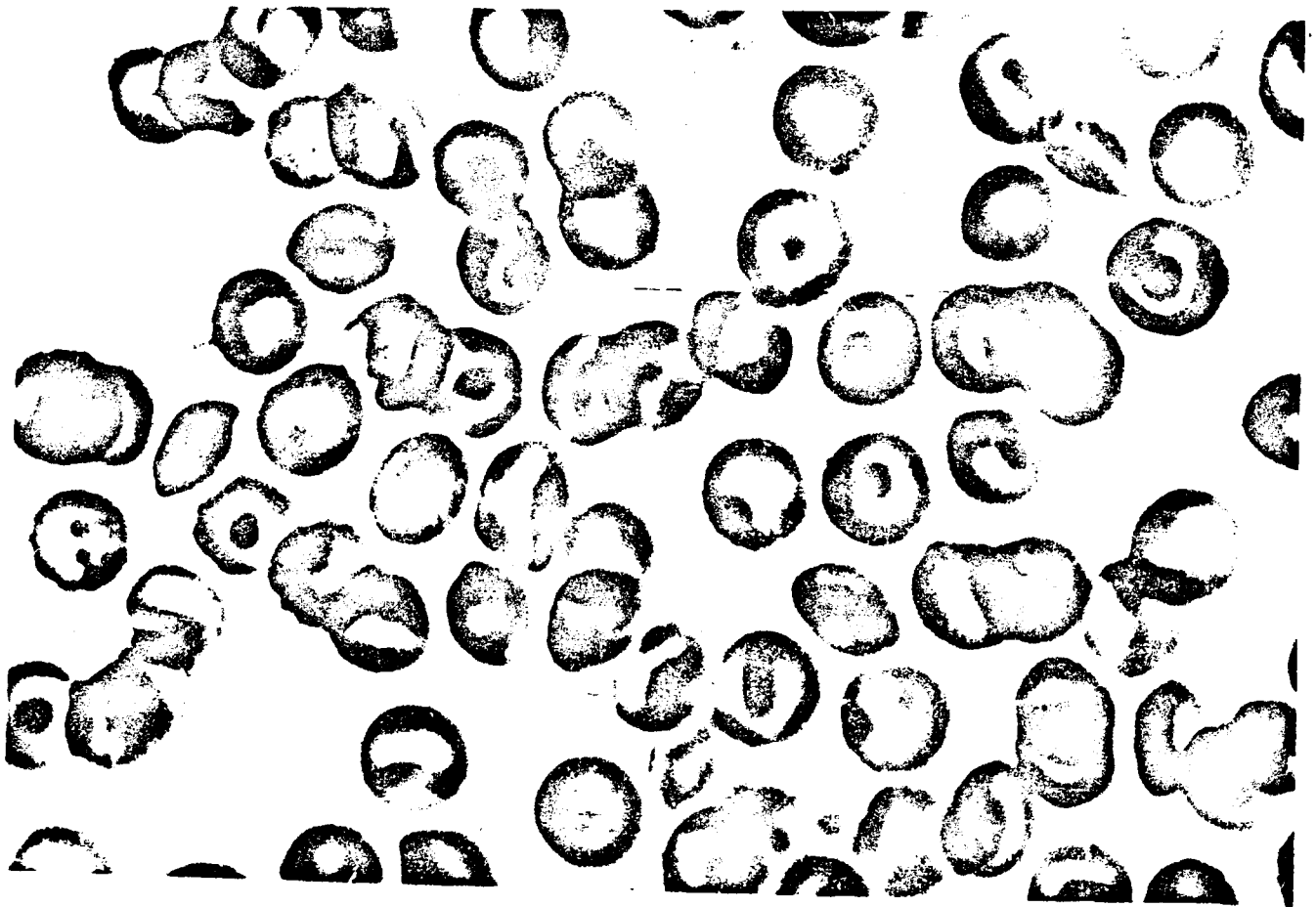
FOTOGRAFIA nº 20.- Fotografía de las bandas electroforéticas de las hemoglobinas del individuo portador de la hemoglobina A-C y de sus padres. La madre presenta una Hb.A normal, en el padre se observa la Hb. en heterozigosis A-C igual que en su hijo.

Tampón de Veronal pH 8,6

Padre Madre Hijo Control



FOTOGRAFIA nº 21.- Fotografía de las bandas electroforéticas obtenidas con las hemoglobinas del individuo portador de la Hb.A-C, de sus padres, y una Hb.A-S como control. Se observa claramente la diferente movilidad electroforética.

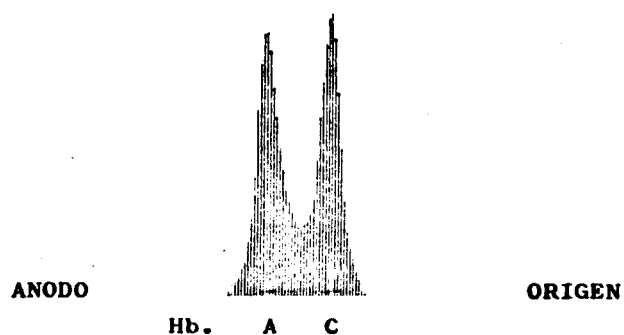


FOTOGRAFIA nº 22.- Microfotografía de una extensión de sangre del individuo portador de la hemoglobina A-C. Es característico la extraordinaria cantidad de dianocitos que se observan

CIUDAD REAL

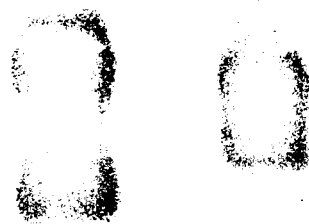
Hb. A 48,96 %

Hb. C 51,04 %



FOTOGRAFIA nº 23.- Fotografía de la banda electroforética y curva de extinción de la hemoglobina de un individuo natural de Ciudad Real. Se observan dos fracciones hemoglobínicas correspondientes a las hemoglobinas A (48,96%) y C (51,04%).

Tampón de Veronal pH 8,6
Hemoglobina C Ciudad Real
Hemoglobina S Patrón



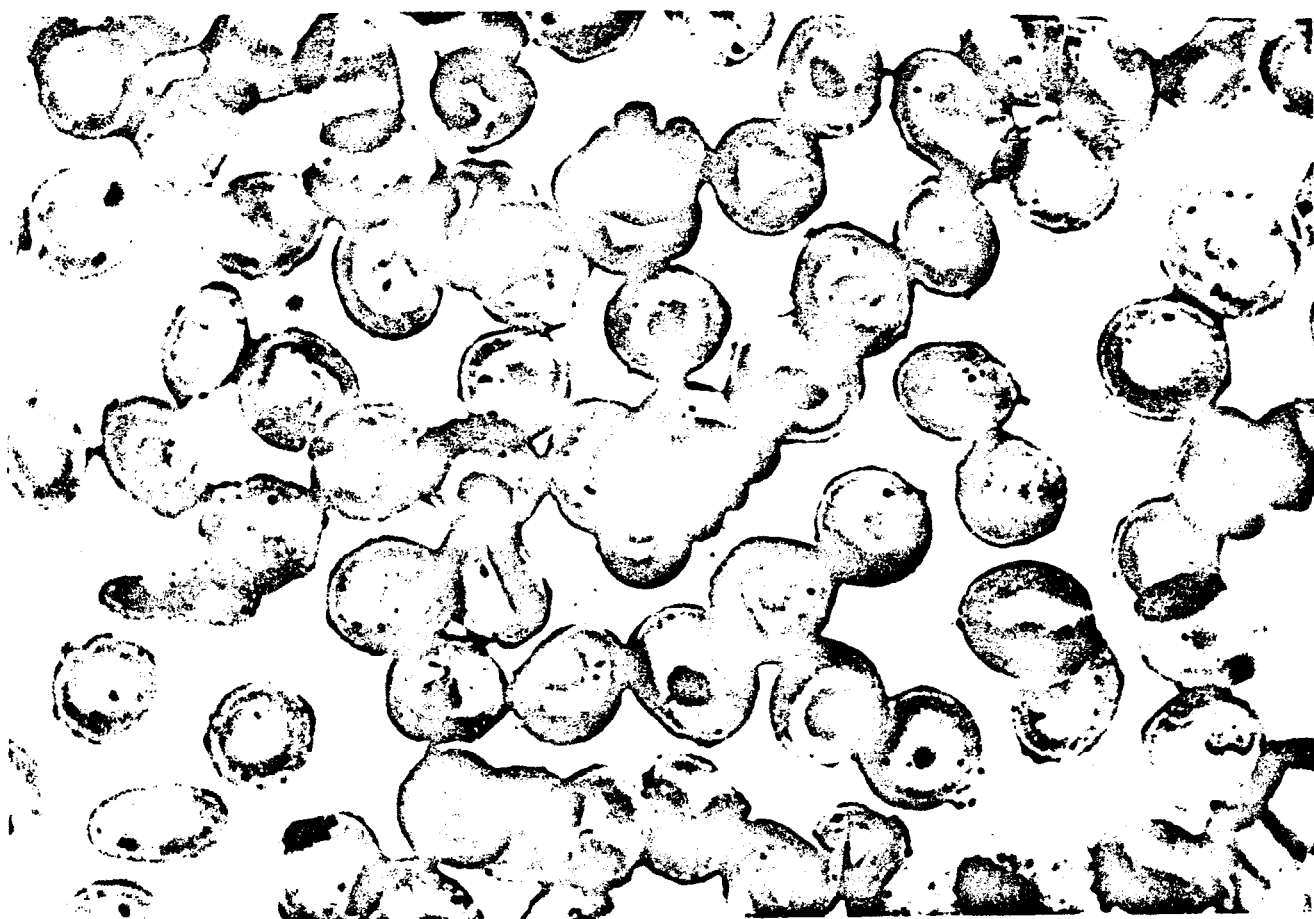
-A

-S

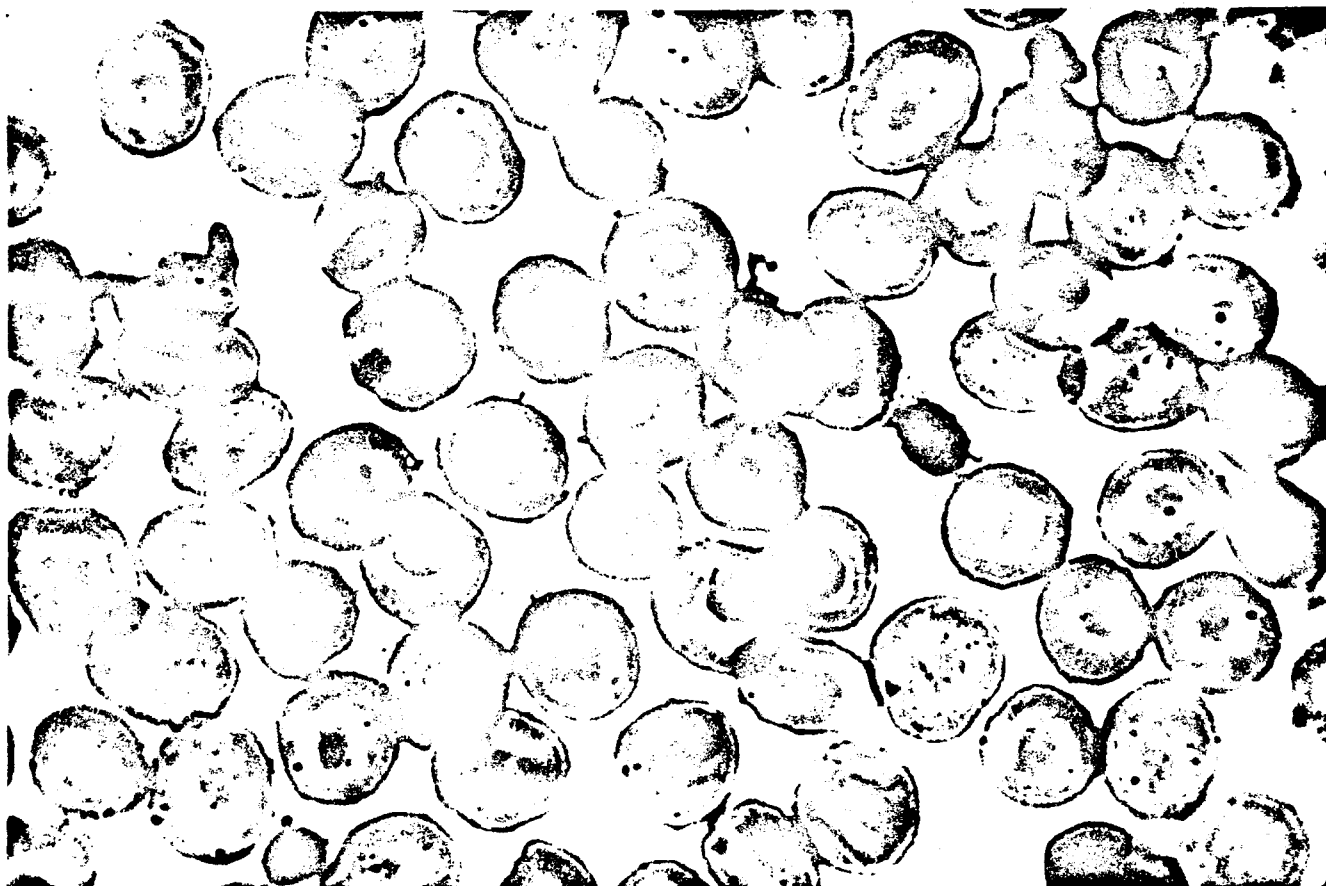
-C

Hbs.

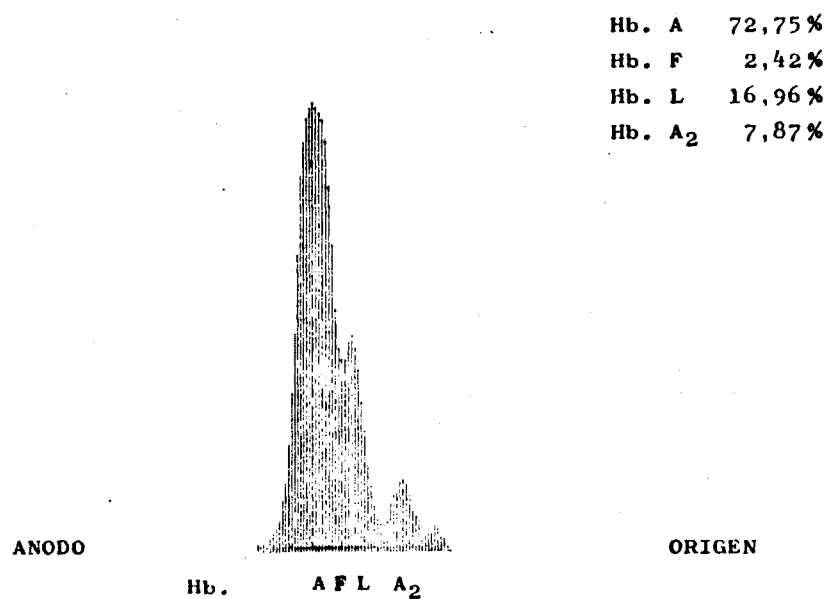
FOTOGRAFIA nº 24.- Fotografía de la banda electroforética de las hemoglobinas A-C (obtenida de un individuo natural de Ciudad Real) y A-S patrón. Se observa claramente la diferente movilidad electroforética de ambas hemoglobinas.



FOTOGRAFIA nº 25.- Microfotografía de una extensión de sangre del individuo portador de la hemoglobina A-C nacido en Ciudad Real. Lo más característico es la gran abundancia de dia-citocitos que se observan.



FOTOGRAFIA nº 26.- Microfotografía de una extensión de sangre del individuo portador de la hemoglobina A-C nacido en Ciudad Real. Destaca la presencia de dianocitos y la regularidad en el tamaño.



FOTOGRAFIA nº 27.- Fotografía de la banda electroforética y curva de extinción de la hemoglobina de un individuo nacido en Puertollano (Ciudad-Real). Se observan diferentes fracciones hemoglobínicas correspondientes a las Hbs. A (72,75), F (2,42%), Lepore (16,96%) y A₂ (7,87%).